

AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR CHIRURGIE  
PROF. DR. MED. HANS J. SCHLITT  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

DER PROGNOTISCHE WERT DES PELD-SCORES IM HINBLICK AUF  
LEBERFIBROSE BEI KINDERN MIT GALLENGANGATRESIE

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Lisa Hofstetter

2020



AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR CHIRURGIE  
PROF. DR. MED. HANS J. SCHLITT  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

DER PROGNOTISCHE WERT DES PELD-SCORES IM HINBLICK AUF  
LEBERFIBROSE BEI KINDERN MIT GALLENGANGATRESIE

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Lisa Hofstetter

2020

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Hans J. Schlitt

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Michael Melter

Tag der mündlichen Prüfung: 22.10.2020

Meinen Eltern

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1 Epidemiologie und Krankheitsbild der Biliären Atresie</b> .....	<b>5</b>
<b>1.2 Ätiologie der Biliären Atresie</b> .....	<b>7</b>
<b>1.2.1 Ursachen der embryonalen Form der Gallengangatresie</b> .....	<b>8</b>
1.2.2 Ätiologie der erworbenen Form der Biliären Atresie.....	10
1.2.2.1 Cytomegalievirus.....	11
1.2.2.2 Reovirus Typ 3 .....	11
1.2.2.3 Rotavirus .....	12
1.2.2.4 HPV, Herpesvirus Typ 6 und Epstein-Barr-Viren .....	13
1.2.3 Immunologische Reaktionen in der Entstehung der Gallengangatresie .....	14
<b>1.3 Diagnostik der Biliären Atresie</b> .....	<b>15</b>
1.3.1 Diagnostischer Pfad .....	15
1.3.2 Diagnostik mittels Abdomensonographie .....	15
1.3.3 Endoskopische retrograde Cholangiopankreatographie (ERCP).....	16
1.3.4 Indikation für eine Lebertransplantation .....	18
<b>1.4 Die Hepatoportoenterostomie nach Kasai und ihre Modifikationen</b> .....	<b>19</b>
1.4.1 Erstbeschreibung durch Morio Kasai .....	19
1.4.2 Modifikationen der Hepatoportoenterostomie nach Kasai.....	23
1.4.3 Laparoskopische Hepatoportoenterostomie.....	24
<b>1.5 Histologie der Cholestase</b> .....	<b>24</b>
<b>1.6 Prognoseparameter in der Literatur</b> .....	<b>29</b>
1.6.1 Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie .....	29
1.6.2 Laborparameter .....	30
1.6.3 Postoperativer Einsatz von Steroiden .....	32
1.6.4 Einführung des Pediatric end-stage liver disease Scoring Systems (PELD-Score)...	33
<b>1.7 Ziel der vorliegenden Arbeit</b> .....	<b>33</b>
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>35</b>
<b>2.1 Untersuchungskollektiv und Studiendesign</b> .....	<b>35</b>
<b>2.2 Retrospektive Datenerhebung von Blutuntersuchungen</b> .....	<b>35</b>
<b>2.3 Abdomensonographie</b> .....	<b>36</b>
<b>2.4 Histologische Untersuchungen der Leberbiopsien</b> .....	<b>36</b>
2.4.1 Entnahmezeitpunkte.....	36
2.4.2 Färbung der Schnitte mit Pikro-Siriusrot .....	37
2.4.3 Immunhistochemie Proliferationsmarker CK 7 .....	37
2.4.4 Auswertungen am HE-Präparat .....	38
<b>2.5 Berechnung des PELD-Scores</b> .....	<b>39</b>
<b>2.6 Statistische Methoden</b> .....	<b>39</b>
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>41</b>
<b>3.1 Zusammensetzung des Untersuchungskollektivs</b> .....	<b>41</b>
<b>3.2 Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie</b> .....	<b>42</b>
<b>3.3 Fortgang bis zur Lebertransplantation</b> .....	<b>43</b>
<b>3.4 Befunde der Abdomensonographien</b> .....	<b>45</b>
3.4.1 Beurteilung des Leberparenchyms.....	45
3.4.2 Darstellbarkeit der Gallenblase .....	46
3.4.3 Befundung der Milz .....	47
<b>3.5 Auswertung der Leberenzyme hinsichtlich prognostischer Aussagekraft</b> .....	<b>48</b>

3.5.1 GOT, GPT und $\gamma$ -GT vor Hepatoportoenterostomie .....	48
3.5.2 GOT, GPT und $\gamma$ -GT im Verlauf .....	49
3.5.3 Leberenzyme im Vergleich zwischen transplantierten und nicht transplantierten Patienten .....	50
3.5.4 Zusammenhang zwischen GOT und GPT .....	53
3.5.5 Verlauf des De-Ritis-Quotienten.....	53
<b>3.6 Auswertung der Bilirubinspiegel .....</b>	<b>54</b>
3.6.1 Bilirubinspiegel zum Zeitpunkt der Kasai-Operation .....	54
3.6.2 Bilirubinspiegel drei Monate postoperativ.....	55
3.6.2 Vergleich der Bilirubinspiegel transplantiertes und nicht transplantiertes Patienten ...	56
<b>3.7 Auswertung der Alkalischen Phosphatase.....</b>	<b>58</b>
3.7.1 Werte der Alkalischen Phosphatase bei Kasai-Operation.....	58
3.7.2 Werte der Alkalischen Phosphatase drei Monate postoperativ .....	58
<b>3.8 Analyse der histologischen Untersuchungen .....</b>	<b>59</b>
3.8.1 Ishak-Score .....	59
3.8.2 Auswertung der Immunhistochemie CK-7 .....	62
3.8.3 Vorkommen von Riesenzellen.....	64
3.8.4 Rosettenformationen der Hepatozyten.....	66
3.8.5 Vorkommen von Bile Plugs in den Portalfeldern .....	68
3.8.6 Morphologie der Hepatozyten .....	70
3.8.7 Unterschiede in der histologischen Auswertung zwischen transplantierten und nicht transplantierten Patienten .....	72
<b>3.9 PELD-Score.....</b>	<b>73</b>
3.9.1 PELD-Score als Marker für pathologische Leberhistologie.....	73
3.9.2 Verlauf des PELD-Scores in den Subgruppen transplantierte und nicht transplantierte Patienten .....	74
<b>3.10 Übersicht der Ergebnisse.....</b>	<b>76</b>
<b>3.11 Zusammenfassung der Ergebnisse.....</b>	<b>78</b>
<b>4. Diskussion.....</b>	<b>80</b>
4.1 Der geeignete Zeitpunkt für die Hepatoportoenterostomie nach Kasai .....	80
4.2 Notwendigkeit einer Lebertransplantation im Zusammenhang mit dem Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie nach Kasai .....	81
4.3 Prognostische Labormarker zum Zeitpunkt der Kasai-Operation.....	81
4.4 Verlaufsparemeter drei Monate nach Kasai-Operation .....	83
4.5 Ishak-Score und CK-7 als prognostisches Instrument.....	85
4.6 PELD-Score.....	86
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>88</b>
<b>6. Anhang.....</b>	<b>90</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>96</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>98</b>
<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>99</b>

# 1. Einleitung

Die Gallengangatresie oder Biliäre Atresie ist eine Erkrankung, die ausschließlich neugeborene Kinder in den ersten Lebensmonaten betrifft.

Im Zuge der Erkrankung kommt es durch eine entzündliche Destruktion der extrahepatischen und aufsteigend auch der intrahepatischen Gallengänge zu einer Cholestase, wodurch sekundär die Leber geschädigt wird und zirrhotische Veränderungen aufweist. Unbehandelt besteht für die Patienten eine 3-Jahres Überlebensrate von 10%. [1]

Obwohl die Gallengangatresie relativ selten ist, ist sie ursächlich für 40-50% der pädiatrischen Lebertransplantationen weltweit und somit von immenser Bedeutung. [2, 3]

## 1.1 Epidemiologie und Krankheitsbild der Biliären Atresie

Die Inzidenz der Gallengangatresie ist eindeutig abhängig von der geographischen Region. Während in Europa etwa fünf bis sechs von 100.000 Lebendgeburten betroffen sind, so kann man in Teilen Französisch Polynesiens von bis zu 32/100.000 erkrankten Kindern ausgehen. Die Vermutung, dass die Erkrankung einer saisonalen Schwankung unterliegt, konnte in großen Studien nicht bestätigt werden. [4, 5]

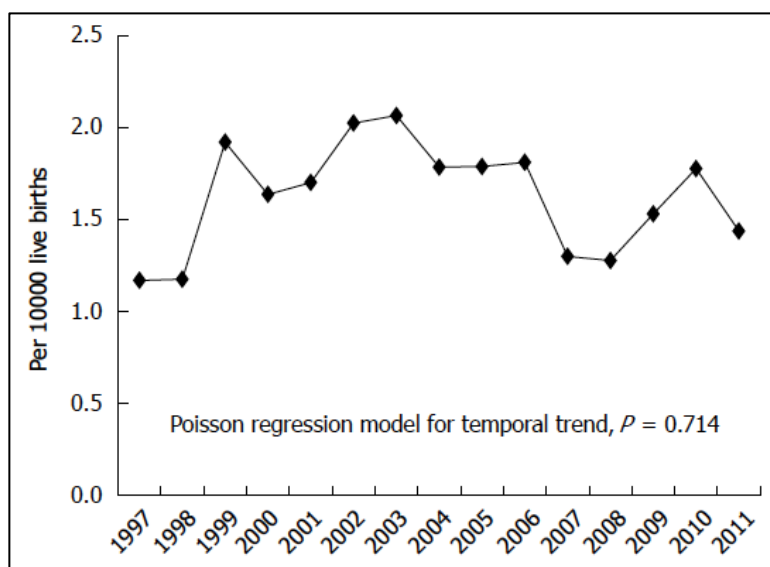


Abbildung 1: Jährliche Inzidenz der Gallengangatresie in Taiwan von 1997 bis 2011 aus Lin et al. [5]



Das Krankheitsbild der extrahepatischen Biliären Atresie ist durch das teilweise oder vollständige Fehlen der Gallenwege zwischen Porta hepatis und Duodenum gekennzeichnet. Die physiologischen Gallengänge sind dabei nicht mehr durchgängig, es kommt zur schrittweisen Fibrosierung und sie verlieren sowohl ihr Endothel als auch ihr Lumen. Dieser Zustand kann makroskopisch und mikroskopisch klar von einer durch intrahepatische Ursachen bedingten Hypoplasie abgegrenzt werden. [6]

Die gebräuchlichste Klassifizierung ist die japanische und angelsächsische Einteilung in drei Typen. Im Falle einer Gallengangatresie vom Typ 1 ist nur der Ductus choledochus betroffen, der oftmals zystisch verändert ist, die proximaleren Abschnitte inklusive der Gallenblase sind intakt. Diese Form ist mit ca. 3-5% der Fälle die seltenste Form. Beim Typ 2 ist das Ausmaß der Schädigung größer, es sind sowohl der Ductus choledochus als auch die Gallenblase, der Ductus cysticus und der Ductus hepaticus communis betroffen. Der Typ 3 entspricht einer vollständigen Atresie aller extrahepatischen Gallenwege bis hoch zum Level der Porta hepatis. Mit ca. 90% der Fälle ist dies die bei weitem häufigste Form. [7, 8]

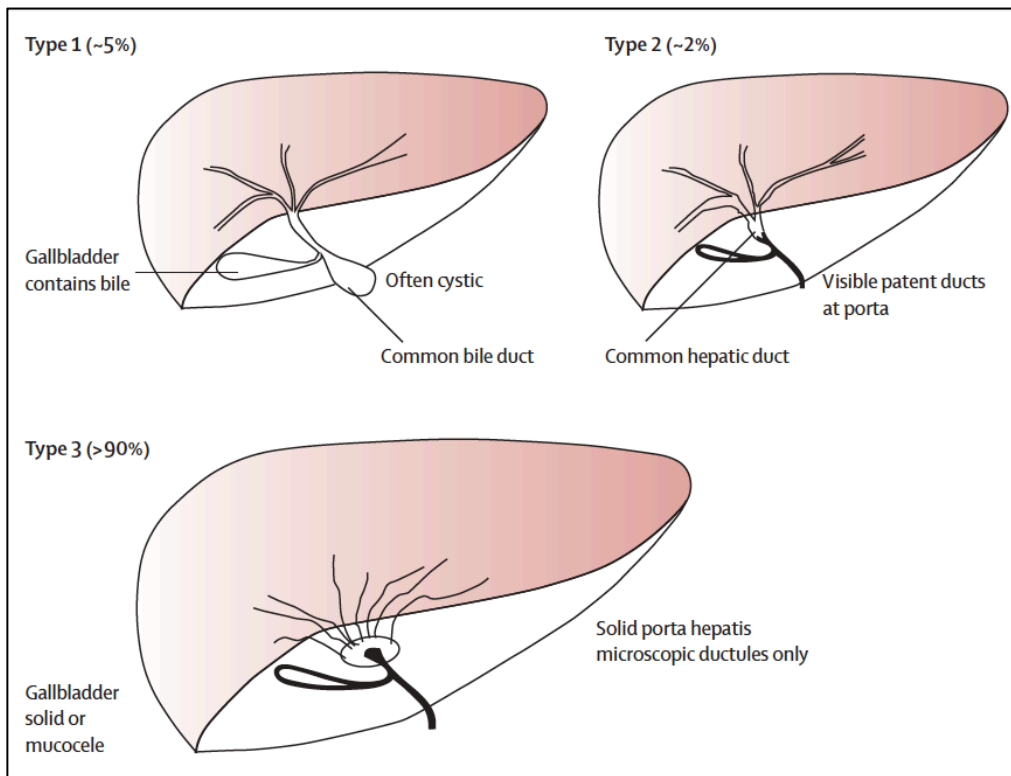


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Klassifizierung der extrahepatischen Gallengangatresie aus Hartley et al. [8]

Klinisch fallen Neugeborene und Säuglinge mit einer Gallengangatresie vorwiegend durch einen neu aufgetretenen oder prolongierten postnatalen Ikterus auf. Zur klassischen Triade gehören außerdem acholische Stühle und/oder dunkler Urin und eine Hepatomegalie. Bei Bestimmung des direkten Bilirubins liegen die Werte bei erkrankten Kindern meist über 100  $\mu\text{mol/L}$  (entspricht 5,882 mg/dl). Normale Konzentrationen im Neugeborenenalter wären unter 20  $\mu\text{mol/L}$  (entspricht 1,176 mg/dl). [8] Ein physiologischer Ikterus würde im Gegensatz zu einer Biliären Atresie durch eine Erhöhung des indirekten Bilirubins auffallen, da hier ein vermehrter Anfall von Bilirubin zugrunde liegt, der nicht ausreichend von der unreifen kindlichen Leber kompensiert werden kann. Mögliche auszuschließende Differenzialdiagnosen der Gallengangatresie stellen das Alagille Syndrom, eine neonatale Form der sklerosierenden Cholangitis oder auch ein Alpha-1-Antitrypsinmangel dar.

Je später die Diagnosestellung erfolgt, desto mehr klinische Zeichen fallen bei den jungen Patienten auf. Es kann zu Splenomegalie und Aszites als Ausdruck einer Portalen Hypertension kommen und im Zusammenspiel mit einem möglichen Mangel an Vitamin K zu intrakraniellen oder gastrointestinalen Blutungen kommen. Das Zusammenspiel dieser Symptome führt ohne eine operative Wiederherstellung des Galleflusses oder im fortgeschrittenen Stadium ohne eine Lebertransplantation unweigerlich zum Tod. [7, 8]

## 1.2 Ätiologie der Biliären Atresie

Die Ursachen und Pathomechanismen, die zur Erkrankung führen, waren lange Zeit völlig unbekannt. Heutzutage geht man von einer Kombination verschiedener Ursachen aus.

Die Gallengangatresie ist keine Erbkrankheit, es sind beispielsweise eineiige Zwillinge nicht zwingend beide betroffen, man geht allerdings von einer gewissen genetischen Komponente aus, die durch nicht identifizierte Mutationen die Entwicklung der Gallengänge beeinflusst und das Immunsystem gegen äußerliche Einflüsse empfindsam macht. [9, 10]

Unterschieden werden muss zwischen einer erworbenen peri- oder postnatalen Form, die ca. 90% aller Fälle ausmacht und einer embryonalen/syndromatischen Form der Gallengangatresie, die 10% der Fälle darstellt und oft mit weiteren angeborenen

Fehlbildungen einhergeht, beispielsweise einer Asplenie/Polysplenie, Situs inversus, Gefäßmalformationen der V. cava inferior und der Portalvene und Herzfehler. [9]

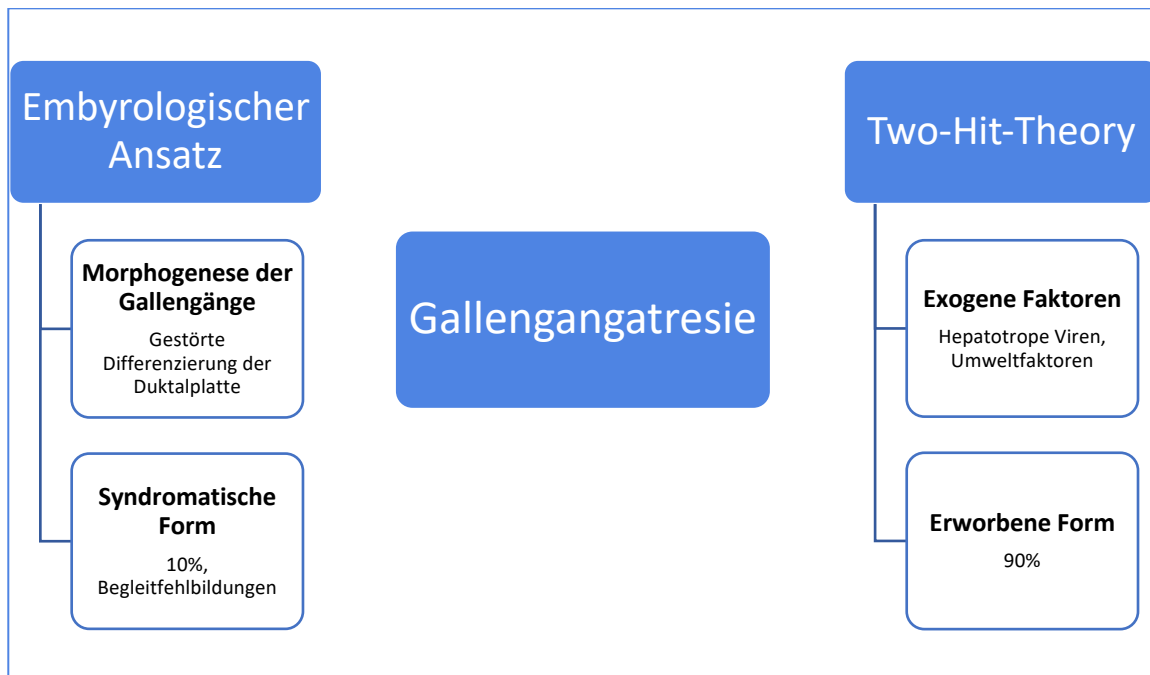


Tabelle 1: Ätiologie der Gallengangatresie

### 1.2.1 Ursachen der embryonalen Form der Gallengangatresie

Die Leber entwickelt sich in der Embryogenese aus dem Endoderm, dem innersten Keimblatt des Embryoblasten, genauer aus dem daraus entstehenden Proenteron (Vorderdarm). Zwischen dem 23. und 26. Schwangerschaftstag bildet sich aus dem Vorderdarm das Hepatische Divertikulum, einschichtig ausgekleidet von endodermalen Zellen. Im Laufe der nächsten Tage entsteht hieraus durch Verdickung und Zellproliferation die Leberknospe, die bereits aus mehreren Schichten der mittlerweile zu Hepatoblasten differenzierten Zellen besteht. Beim Menschen entwickeln sich nun ab dem 56. bis 58. Schwangerschaftstag diejenigen Hepatoblasten zu den Zellen des Gallensystems, die in der sogenannten Duktalplatte direkt angrenzend an Äste der Portalvene liegen. Zum Zeitpunkt der 30. Schwangerschaftswoche ist beim gesunden Embryo die Formierung von Gallengängen, bestehend aus reifen CK-19 positiven Cholangiozyten, abgeschlossen. [11]

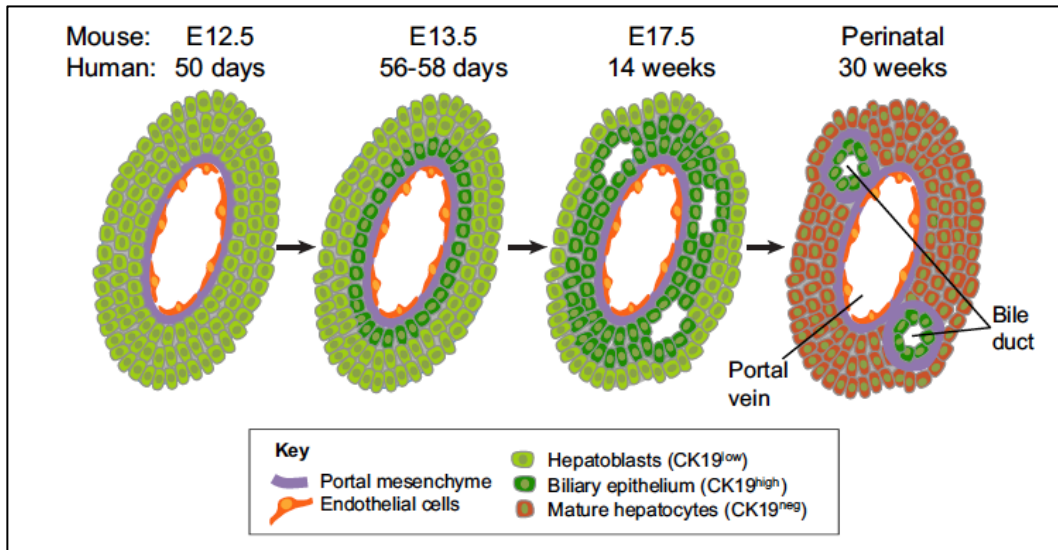


Abbildung 3: Embryonale Entwicklung der Gallengänge aus Gordillo et al. [11]

Schon im Jahr 1994 postulierten Tan et. al, dass eine mögliche Ursache für die embryonale Form der Gallengangatresie ein Entwicklungsstopp zwischen der 11. und 13. Schwangerschaftswoche sein könnte. Durch das Fehlen einer mesenchymalen Manschette (siehe Abbildung 3) um die sich bildenden Gallengänge, sind diese in ihrer physiologischen Zelldifferenzierung gestört, verbleiben in einem unreifen Stadium und mit dem Einsetzen des Galleflusses spätestens zur 14. Schwangerschaftswoche kommt es durch die austretende Galle zu massiven Entzündungsreaktionen, die sekundär zur Obliteration der extrahepatischen Gallengänge führen. Belegt wurde dies durch die immunhistochemische Untersuchung von Zytokeratinen in der Leberhilusregionen betroffener Neugeborener, bei der sich anstelle reifer Gallengangsepithelien Reihen von Zellen fanden, die Vorläuferzellen aus dem ersten Trimester entsprachen. [12]

Einen anderen Erklärungsansatz bietet die Hypothese, dass es in der Schwangerschaft durch das Übertreten mütterlicher Zellen auf den Fetus zu immunologischen Reaktionen kommt, die einer Graft-versus-Host Erkrankung ähneln. Suskind et al. lieferten 2004 den Nachweis, dass dieser sogenannte mütterliche Mikrochimärismus verstärkt in den Lebern von Kindern mit Biliärer Atresie zu finden ist. Es kommt nicht, wie bei einem gesunden Neugeborenen zum Abräumen der mütterlichen Zellen durch das körpereigene Immunsystem, sondern zum Engraftment der Lymphozyten. Vorherrschend sind sowohl bei der GvHD als auch bei den untersuchten Fällen von Biliärer Atresie CD4<sup>+</sup> T-Helferzellen, die vor allem um die Gallengänge nachzuweisen waren und diese vermutlich

zerstören. [13]

Diese Ergebnisse wurden drei Jahre später durch ähnliche Arbeiten bekräftigt. [14, 15] Bereits Mitte des 20. Jahrhunderts erfolgten Untersuchungen, die sich mit der Morphologie der intrahepatisch gelegenen Äste der A. hepatis und der Blutversorgung als mögliche Ursache einer embryonalen Fehlanlage der Gallengänge beschäftigten. [16] Ho et al. lenkten ihren Fokus 1994 auf die Arterienäste der A. hepatica, die die extrahepatischen Gallengänge versorgen. Sie konnten bei elf Kindern mit Gallengangatresie in den zum Zeitpunkt einer Portoenterostomie nach Kasai entnommenen Leberhilusregionen Gefäßpathologien nachweisen. Die Arterien waren in allen gewonnenen Proben dilatiert und die Tunica media hypertrophiert. Da diese Veränderungen unabhängig vom Grad einer eventuell vorhandenen Leberfibrose und entzündlicher Reaktionen in der Leber waren, liegt die Vermutung nahe, dass sie bereits in frühen Krankheitsstadien vorliegen und unter Umständen mit der embryonalen Pathogenese der Gallengangatresie vergesellschaftet sind. [16]

### 1.2.2 Ätiologie der erworbenen Form der Biliären Atresie

Bei der peri- oder postnatalen Gallengangatresie handelt es sich im Gegensatz zur embryonalen Form um eine erworbene Krankheit, die durch exogene Faktoren beeinflusst wird. Schreiber und Kleinmann formulierten in diesem Zusammenhang 1993 ihre Two-Hit-Theory, die von einer genetisch bedingten Vulnerabilität gegenüber Umweltfaktoren wie zum Beispiel Viren oder Toxinen ausgeht, die über eine daraus folgende veränderte Antigen-Expression auf Gallengangsepithelzellen zu deren Zerstörung durch das körpereigene Immunsystem des Patienten führt. [17]

Eine Beteiligung von Infektionen mit bestimmten Viren an der Ätiologie der Gallengangatresie wurde erstmals 1974 von Landing vermutet; heutzutage gilt dies für mehrere Viren als weitgehend gesichert. [18]

### *1.2.2.1 Cytomegalievirus*

Das überproportional häufige Auftreten von Cytomegalievirus-Infektionen fiel beispielsweise Tarr et al auf. Sie untersuchten in ihrer retrospektiven Studie die Akten von 23 Patienten mit Biliärer Atresie und fanden bei 5 (24%) von ihnen den Nachweis einer CMV-Infektion in der Leber. [19]

Chang et al. fanden mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR) eine wesentlich größere Rate an CMV in Leberbiopsien von Kindern mit Neonataler Hepatitis (NH), als bei Patienten mit Gallengangatresie. Nur zwei der 26 Fälle von Biliärer Atresie waren auch mit CMV infiziert, wohingegen es bei der Gruppe mit NH 46% waren. [20]

Ähnliche Ergebnisse fanden Fischler et al. bei Ihren Untersuchungen von sowohl Neugeborenen mit Biliärer Atresie als auch Kindern mit intrahepatisch verursachter Cholestase. Sie erbrachten bei 32% der gesamten Kohorte und bei 38% der Patienten mit Gallengangatresie den Nachweis von IgM gegen CMV im Serum. [21]

Es ist davon auszugehen, dass das Cytomegalievirus sowohl mit der Neonatalen Hepatitis als auch mit der Biliären Atresie vergesellschaftet ist, die beiden Krankheitsbilder womöglich sogar nur unterschiedliche Endstadien des gleichen pathologischen Prozesses in der Leber darstellen. [22]

### *1.2.2.2 Reovirus Typ 3*

Seit der Veröffentlichung mehrerer Arbeiten in den 1980er Jahren wird auch eine Beteiligung von Reovirus Typ 3 an der Ätiologie der Gallengangatresie und auch der Neonatalen Hepatitis kontrovers diskutiert.

Im Jahr 1984 untersuchten Glaser et al. die Seren von 167 Kindern unter einem Jahr auf Antikörper gegen Reovirus Typ 3, aufgeteilt auf vier Gruppen, eine Gruppe mit Biliärer Atresie, eine mit Neonataler Hepatitis, Kinder mit anderen eine Cholestase verursachenden Krankheiten und eine Kontrollgruppe. In 62% der Fälle mit Gallengangatresie und in 52% der Fälle mit Neonataler Hepatitis konnten erhöhte Antikörper-Titer nachgewiesen werden. Bei der Kontrollgruppe und der Gruppe mit anderen Krankheiten fielen die Raten mit 7% und 12% deutlich niedriger aus. [23]

Im gleichen Jahr erbrachten Morecki et al. den histologischen Nachweis von Reovirus Typ

3 in der Porta hepatis von an Biliärer Atresie erkrankten Neugeborenen. Bei beiden Probanden erfolgte die Detektion des Virus in den zum Zeitpunkt einer Portoenterostomie entnommenen Präparaten mittels Immunhistochemie und Elektronenmikroskopie, gehäuft in entzündeten, nekrotischen Gallengangstrukturen. [24]

Andere Arbeiten scheinen einem Zusammenhang der Krankheitsentstehung mit Reovirus Typ 3 zu widersprechen:

Brown et al. konnten in ihrer Studie an Kindern mit BA und NH weder einen signifikanten Zusammenhang zwischen Gallengangatresie und den Antikörper-Titern im Serum herstellen, noch fanden sie Reovirus Typ 3 in intrahepatischen oder extrahepatischen histologischen Präparaten. [25]

Auch im Jahr 2004 kamen Saito et al. zu ähnlichen Ergebnissen. Sie untersuchten Lebergewebe von 26 Kindern mit BA und Stuhlproben von zehn Kindern mit BA mit Hilfe der PCR und fanden in keiner der Proben Spuren von Reovirus Typ 3. Auch eine erfolgte elektronenmikroskopische Beurteilung brachte keinen Hinweis auf eine Beteiligung des Virus. [26]

Ein möglicher Grund für diese kontroversen Ergebnisse könnte sein, dass das Reovirus nach einer gewissen Zeit aus dem Gewebe eliminiert wird und somit nicht mehr nachweisbar ist. [27] Es kommt somit auf dem Zeitpunkt der Gewebeentnahmen an, der in der Studie von Saito et al. beispielsweise im Durchschnitt erst im Alter von 8,7 Monaten erfolgte. Außerdem könnte eine lange Aufbewahrungszeit der Proben Einfluss auf die Nachweisbarkeit nehmen. [26]

### *1.2.2.3 Rotavirus*

Ein weiteres zur Diskussion stehendes Virus aus der Familie der Reoviren ist das Rotavirus.

Bereits 1992 wiesen Gilger et al. bei vier Kindern mit schweren kombinierten Immundefekten verschiedene Serotypen des Rotavirus histologisch in Leber und Niere nach, grundsätzlich besitzt das Virus also die Fähigkeit extraintestinale Infektionen auszulösen. [28]

Dies bestätigt die vorangegangene in vitro gewonnene Erkenntnis, dass Rotaviren sich in

menschlichen Leberzelllinien vermehren können. [29]

Untersuchungen zur Rolle der Rotaviren bei Kindern mit Gallengangatresie erfolgten in der retrospektiven Studie von Riepenhoff-Talty et al., hier wurde der Rotavirus Subtyp C mittels PCR in Lebergewebe von zehn von 20 Probanden mit BA nachgewiesen. In der Kontrollgruppe war keines der Kinder positiv auf Rotaviren in der Leber getestet worden. [30]

Eine wesentlich neuere Arbeit, veröffentlicht im Jahr 2015, beschäftigte sich ebenfalls mit dem Rotavirus Typ C und zog zusätzlich noch die Infektion mit Rotavirus Typ A, den häufigsten Auslöser einer Gastroenteritis bei Kleinkindern, in Betracht. Es wurden die Seren zum Zeitpunkt der Diagnose und im Abstand dazu von zwei bis sechs Monaten von 40 Kinder mit Biliärer Atresie und von 38 Kindern in der Kontrollgruppe mit einer Cholestase aus anderen Gründen untersucht. Die Prävalenz einer asymptomatischen Infektion mit Rotavirus Typ A oder C wich in den beiden Gruppen nicht signifikant voneinander ab, die Vermutung einer Beteiligung an der Ätiologie speziell der Gallengangatresie konnte hier somit nicht bekräftigt werden. [31]

Auch die Rolle der Rotaviren verbleibt somit bis heute weitgehend ungeklärt und es muss auf weitere große Studien gehofft werden.

#### *1.2.2.4 HPV, Herpesvirus Typ 6 und Epstein-Barr-Viren*

Das gleiche gilt für das Humane Papillomvirus, Herpesvirus Typ 6 und Epstein-Barr-Viren. Dass sie eine Rolle in der Ätiologie der Biliären Atresie spielen, kann aufgrund der aktuellen Studienlage als eher unwahrscheinlich angenommen werden, sie sollten aber der Vollständigkeit halber erwähnt werden. Da der Untersuchungszeitpunkt in den Studien relativ spät liegt, könnte auch hier ein Problem sein, dass das Virus vom Körper schon aus der Leber eliminiert wurde. [32, 33]

Eine Studie aus dem Jahr 2005 von Fjaer et al. sieht eine erhöhte Inzidenz von Epstein-Barr-Viren in den Leberbiopsien der Patienten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation, da die Studie nur aus zehn Probanden bestand, und das Virus nur in einem der Patienten in der Leberbiopsie mit der PCR nachgewiesen werden konnte. [34]



### 1.2.3 Immunologische Reaktionen in der Entstehung der Gallengangatresie

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einer Gallengangatresie konnte festgestellt werden, dass in den Lebern betroffener Patienten vermehrt CD8- und CD4-positive T-Lymphozyten vorkommen. [35] Diese beispielsweise bei der Bekämpfung von Viren beteiligten Abwehrzellen können im Zuge der überschießenden Immunantwort auch das Epithel der Gallengänge schädigen und somit zur Entstehung der die Biliäre Atresie kennzeichnenden Obstruktion der Gallengänge beitragen. Shivakumar et al. zeigten 2007 an einem Mausmodell, dass CD8-positive T-Lymphozyten, die zuvor mit einem Rotavirus in Kontakt gekommen waren, im Verlauf auch naive Cholangiozyten angriffen und zerstörten. [36]

Auch eine Beteiligung der in der Leber beheimateten NK-Zellen gilt in der Ätiologie der Gallengangatresie als wahrscheinlich. Sie kommen im Mausmodell vermehrt in den Portalfeldern vor und ihre Anzahl nimmt im Verlauf der Erkrankung tendenziell noch zu. In der selben Arbeit ließ sich nachweisen, dass NK-Zellen in vitro in der Lage sind, Cholangiozyten zu zerstören. [37]

Im Jahr 2012 wurden diese Ergebnisse durch Guo et al. bestätigt, in einer retrospektiven Untersuchung von Lymphozyten und Gallengangsüberresten aus entnommenen Leberproben wurde ebenfalls eine Überexpression von CD8-positiven T-Lymphozyten und NK-Zellen nachgewiesen. Diese Zellen stellten sich als zytotoxisch gegenüber den Epithelien der Gallengänge heraus. [38]

In einer Untersuchung von Lymphknoten im Bereich des Leberhilus fand sich hier zusätzlich zu den bereits beschriebenen Zellvermehrungen auch noch ein im Vergleich zum peripheren Blut erhöhtes Vorkommen von regulatorischen T-Zellen, was auch hier wiederum eine Beteiligung an der Pathogenese nahelegt. [39] Gesichert scheint, dass diese T-Zellen die Immunantwort der CD8-positiven T-Lymphozyten mitregulieren und aktivieren. [40]

## 1.3 Diagnostik der Biliären Atresie

### 1.3.1 Diagnostischer Pfad

Die Leitlinie zur Hyperbilirubinämie der Deutschen Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin empfiehlt bei jedem Kind, das aufgrund eines anhaltenden Ikterus einer Phototherapie zugeführt wird, oder einen über vier Wochen bestehenden Ikterus aufweist, eine Bestimmung des direkten Bilirubins. Ab einem Anteil von über 10% am Gesamtbilirubin oder bei über 2 mg/dl absolut besteht laut Leitlinie die Indikation für eine weiterführende Diagnostik (siehe Tabelle 2). [41]

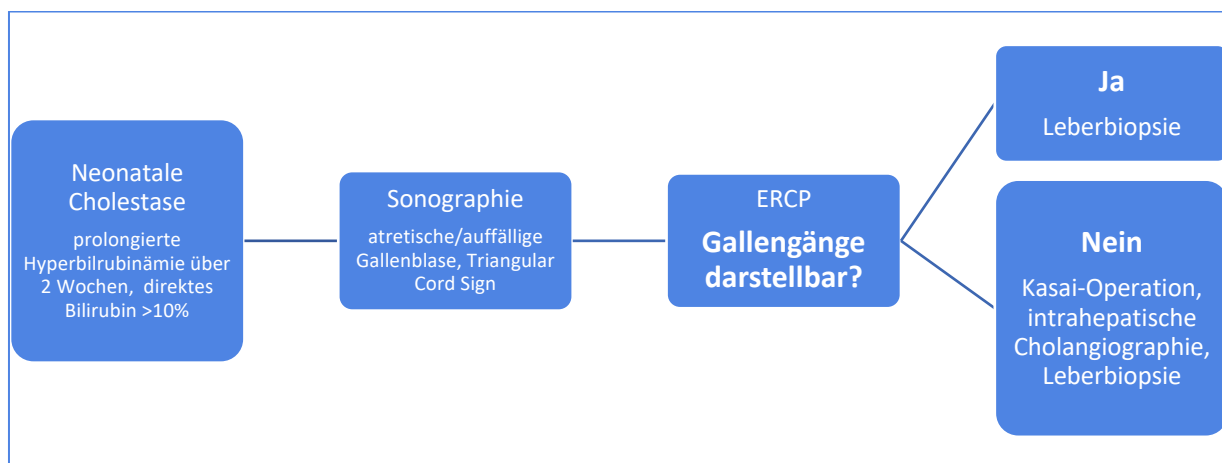


Tabelle 2: Diagnostischer Pfad im KH St. Hedwig, Regensburg

### 1.3.2 Diagnostik mittels Abdomensonographie

Den ersten Schritt stellt die Abdomensonographie dar, da sie ohne jegliche Strahlenbelastung und Sedierung durchgeführt werden kann. Die Untersuchung erfolgt bevorzugt nach einer Nüchternphase von 8 bis 12 Stunden. Beurteilt wird unter anderem die Gallenblase, die sich bei einem Kind mit Biliärer Atresie nicht wie bei gesunden Neugeborenen durch die Nahrungskarenz füllt und somit sehr klein und unter Umständen nicht deutlich oder gar nicht identifizierbar ist. [7]

Einen weiteren diagnostischen Hinweis liefert das „Triangular Cord Sign“ (siehe Abbildung 4). Erstmals 1996 von Choi et al. beschrieben, handelt es sich hierbei um eine

sonographisch erkennbare Hyperechogenität kranial der Bifurkation der Vena hepatis, die so bei keinem anderen cholestatischen Krankheitsbild vorhanden ist. [42]

Die Beurteilung von Gallenblase und „Triangular Cord Sign“ wurden in einer Metaanalyse von 23 Studien aus den Jahren 1998-2015 als zuverlässigste Ultraschallkriterien bestätigt. Für Gallenblasenanomalien fanden die Autoren eine Sensitivität von 85% und eine Spezifität von 92%, am besten eignet sich für die Feststellung einer Anomalie die Darstellung von Irregularitäten in den Wandstrukturen, wie ungleichmäßige Dicke der Wand oder eine dünne Wand mit Fehlen der Mukosa. Das vollständige Fehlen einer Gallenblase in der Ultraschalluntersuchung war mit 99% Spezifität ebenfalls ein zuverlässiges Zeichen zur Differentialdiagnose einer Gallengangatresie. Die Aussagekraft des Triangular Cord Signs ist mit einer Sensitivität von 74% und einer Spezifität von 97% sehr hoch. [43]

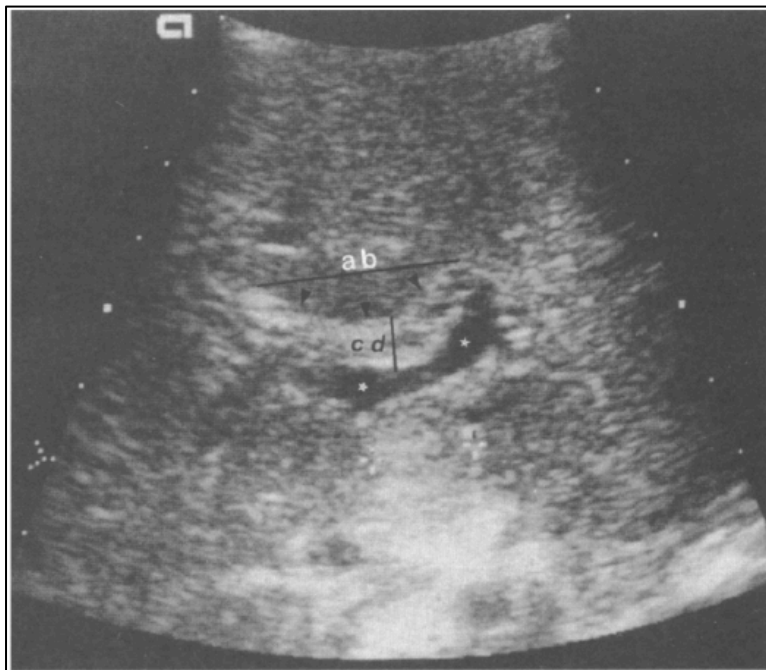


Abbildung 4: Triangular Cord Sign (ab: Länge, cd: Breite) und Portalvene (\*) aus Choi et al. [42]

### 1.3.3 Endoskopische retrograde Cholangiopankreatographie (ERCP)

In spezialisierten Zentren kann zur Diagnosesicherung die endoskopische retrograde Cholangiopankreatographie (ERCP) zum Einsatz kommen, die einer explorativen

Laparoskopie oder einer perkutanen Leberbiopsie im Hinblick auf die Nutzen-Risiko-Abwägung vorzuziehen ist. Bei dem kurzen, in Allgemeinanästhesie stattfindenden Eingriff, wird ein spezielles Endoskop für Neugeborene bis in das Duodenum vorgebracht und die Papilla Vateri aufgesucht. Um den Ductus choledochus und die anschließenden aufsteigenden Gallenwege mit Kontrastmittel zu füllen, wird das Endoskop direkt auf die Papille aufgesetzt. Sollten sich nach zwei bis drei Versuchen keine Gallengänge mit dem Röntgenbildwandler darstellen lassen, so gilt die Diagnose einer Biliären Atresie als wahrscheinlich gesichert. [44]

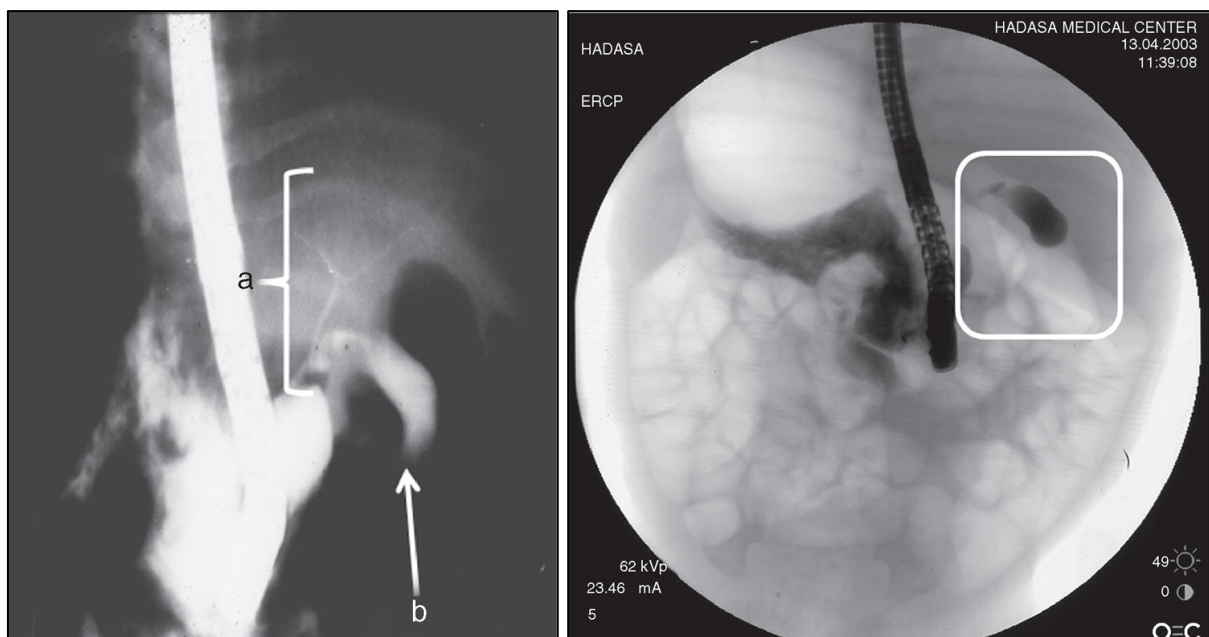
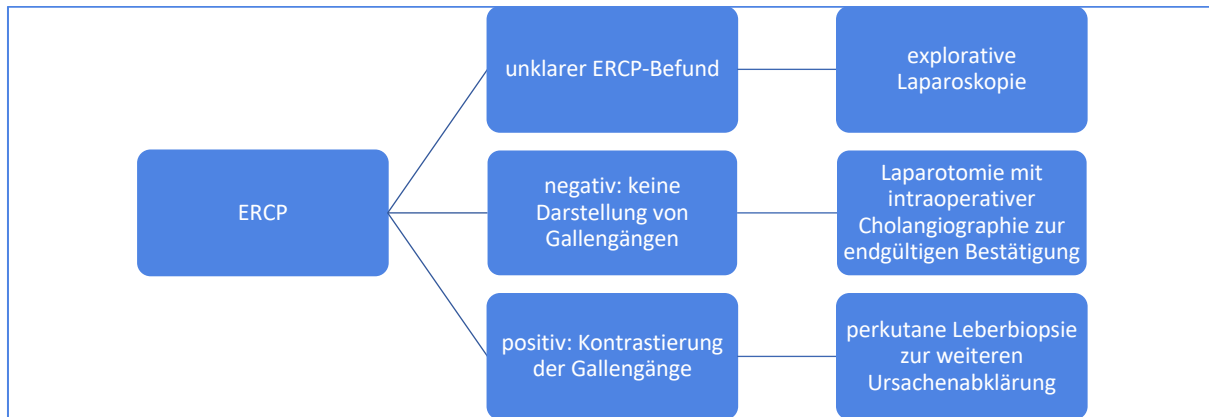


Abbildung 5: links ERCP Bild physiologischer Gallenwege (a: extrahepatische Gallenwege, b: Gallenblase), rechts ERCP Bild bei Gallengangatresie mit sichtbarer Gallenblase und fehlender Kontrastierung der extrahepatischen Gallenwege, beide aus Shteyer et al. [45]

Zudem kann die ERCP bei Neugeborenen unnötige Operationen und Biopsien vermeiden. In einer Studie von Shteyer et al. konnte der nach Sonographie und durch die vorherrschende Klinik bestehende Verdacht auf eine Gallengangatresie bei 19% der Probanden durch eine ERCP widerlegt werden und die Kinder wurden somit nicht weiteren hochinvasiven Eingriffen ausgesetzt (siehe Tabelle 3). [45]



*Tabelle 3: Vorgehen nach ERCP*

Bei Bestätigung der Diagnose einer Gallengangatresie durch die ERCP sollte möglichst rasch die Hepatoportoenterostomie nach Kasai stattfinden, um den Gallefluss wiederherzustellen und die konsekutive Leberschädigung zu begrenzen. Der Goldstandard zur endgültigen Diagnosesicherung ist die intraoperative Cholangiographie, die zu Operationsbeginn bei vorhandener Gallenblase durchgeführt wird. Bei unklarem Untersuchungsergebnis der ERCP erfolgt eine explorative Laparoskopie, an die dann gegebenenfalls direkt die Kasai-Operation angeschlossen werden kann. [8]

#### 1.3.4 Indikation für eine Lebertransplantation

Den primären operativen Behandlungsschritt der Gallengangatresie stellt die Operation nach Kasai dar. Bei einem nicht zu vernachlässigenden Anteil von je nach Studie 40%-50% [46, 47] kann durch den Eingriff ein adäquater Gallefluss hergestellt werden und die Lebertransplantation mit ihren einhergehenden Risiken wie einer dauerhaften Immunsuppression über Jahre hinausgezögert oder unter Umständen sogar ganz verhindert werden. Des Weiteren besteht in der pädiatrischen Lebertransplantation eine andauernde Organmangelsituation, was zu langen Zeiten auf der Warteliste führt, sofern nicht ein Elternteil für eine Split-Lebertransplantation in Frage kommt. [47]

Voraussetzung für einen Erfolg der Hepatoportoenterostomie scheint in der Literatur zu diesem Thema ein frühzeitig erfolgter Eingriff zu sein. Manche Studien legen nahe bei Kindern, die zu spät diagnostiziert werden, eine primäre Lebertransplantation

vorzunehmen, da dann nicht mehr von einem ausreichenden Effekt der Kasai-Operation auszugehen ist. Die Cut-off-Werte für den Erfolg einer Kasai-Operation liegen in diesen Arbeiten bei 6,5, 8 und 12 Wochen. [48, 49, 50]

Im Hinblick auf die in den letzten Jahrzehnten kontinuierlich steigenden postoperativen Überlebensraten, kann die primäre Lebertransplantation bei bereits fortgeschrittenem Krankheitsverlauf allerdings als ein zunehmend großzügig einzusetzendes Verfahren angesehen werden. [51]

## 1.4 Die Hepatoportoenterostomie nach Kasai und ihre Modifikationen

### 1.4.1 Erstbeschreibung durch Morio Kasai

Die erste Hepatoportoenterostomie bei einem Kind mit Gallengangatresie wurde 1955 vom japanischen Pionier der Kinderchirurgie Morio Kasai durchgeführt. Er operierte einen 72 Tage alten Säugling mit einer Krankheit, die zu dieser Zeit in nahezu allen Fällen rasch tödlich verlief. Kasai bemerkte intraoperativ das völlige Fehlen extrahepatischer Gallengänge und beschloss, auf den Keil, den er aus der Leber reseziert hatte, eine Duodenalschlinge aufzunähen. Nach der Operation begann der Säugling zur Überraschung vieler Beteiligten gefärbte Stühle abzusetzen und sein klinisch erkennbarer Ikterus klang ab.

Veröffentlicht wurde die neue Methode erstmals 1959 in einer japanischen Fachzeitschrift, allerdings dauerte es bis in die 1960er Jahre, bis die Operationstechnik in der westlichen Welt wahrgenommen wurde, als der Artikel übersetzt und in englischsprachigen Journalen gedruckt wurde. [52]

Die Operation findet in Rückenlage statt, der Operationszugang bei der ursprünglichen Operationsmethode nach Kasai ist eine transverse Oberbauchlaparotomie von ca. 12 bis 15 cm Länge, ungefähr zwei Drittel des Schnittes rechts der Mittellinie gelegen. Bei der anschließenden Inspektion der Bauchhöhle sollte ein Augenmerk auf etwaigen anderen Anomalien liegen, wie etwa ein Meckel-Divertikel, das im Zuge der Operation mit reseziert werden sollte.

Zur optimalen Visualisierung der Leberhilus-Region, kann die Leber ohne Durchtrennung

von Ligamenten aus der Bauchhöhle heraus mobilisiert werden. Sollte eine Gallenblase mit erkennbarem Lumen vorliegen, findet eine die Diagnose einer Biliären Atresie endgültig bestätigende Cholangiographie statt. [7]

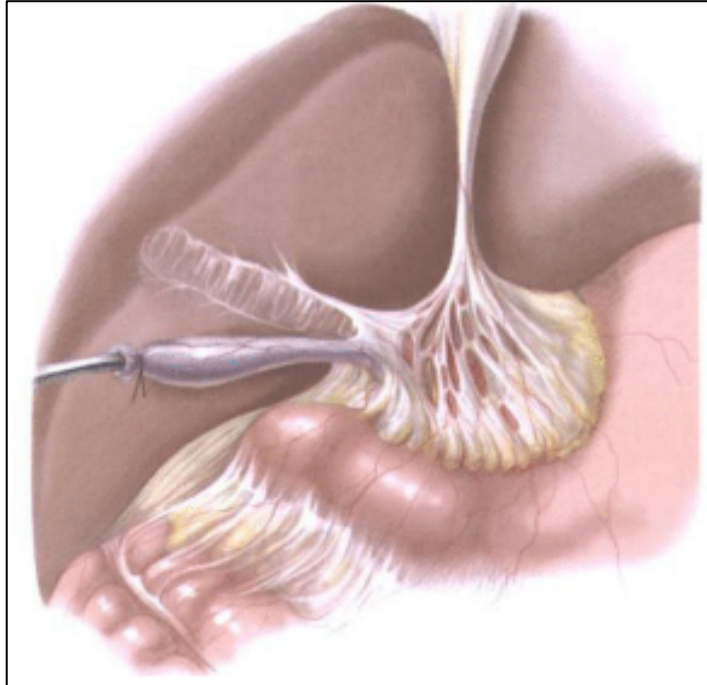


Abbildung 6: Intraoperative Cholangiographie (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53])

Den nächsten Schritt stellen die Mobilisation der rudimentären Gallenblase und der Überreste der Gallengänge dar. Reseziert werden sowohl die Gallenblase als auch der Ductus cysticus und der Ductus hepaticus communis aufsteigend bis zur Leberpforte. Der Ductus choledochus wird distal der Einmündung des Ductus cysticus durchtrennt. Nach der vollständigen Darstellung der Gallenwege erfolgt die Entfernung selbiger en bloc, dabei muss darauf geachtet werden, eine möglichst optimale Eröffnung der kleinen Gallengänge in der Leber zu gewährleisten, die einen postoperativen Galleabfluss ermöglichen soll. Der Ductus hepaticus communis wird daher bis möglichst weit kranial verfolgt, sollte noch eine Aufzweigung in Ductus hepaticus sinister und dexter erkennbar sein, kann man an diesen nach proximal präparieren. Sollte ein zu großer Keil des Leberparenchyms an der Leberpforte entfernt werden, kann es zu einer Narbenbildung kommen, die den Gallefluss einschränkt, reseziert man einen zu oberflächlichen Teil des Hilus, sind die kleinen Gallengänge womöglich nicht weit genug eröffnet.

Falls keine Gallenblase und keine Gallenwege zu identifizieren sind, so sind in einem ersten Schritt die zur Leber führenden Gefäßstrukturen zu identifizieren. Sobald dies erfolgt ist, kann der vordere Anteil des Ligamentum hepatoduodenale, in dem die obliterierten Gallengänge zu vermuten sind, unter Schonung der Vena portae und Arteria hepatis reseziert werden. Dieses Vorgehen ist auch bei Patienten mit bestehenden Verwachsungen nach etwaigen Voroperationen bewährt.

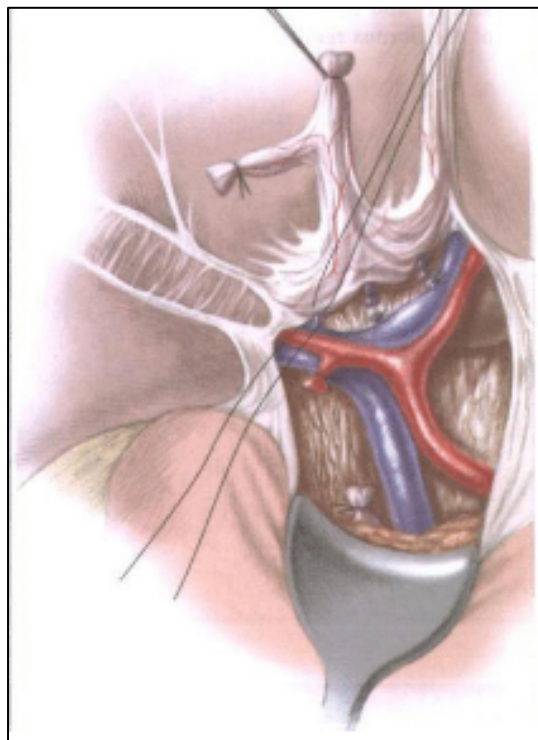


Abbildung 7: Leberpforte nach Durchtrennung von D. cysticus und D. Choledochus (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53])

Auf die eröffnete Leberpforte erfolgt nach Entfernung der extrahepatischen Gallenwege die Anastomose einer Jejunumschlinge in Y-Roux-Form. Dafür wird das Jejunum 10 bis 15 cm aboral des Treitz'schen Bandes durchtrennt und der so entstandene freie Jejunumschenkel durch einen Schlitz im Mesocolon vor dem Duodenum zur Porta hepatis hinaufgeführt. Gegenüber des Mesenteriums wird der Darm ca. 5 mm weit eröffnet und direkt auf die eröffnete Leberpforte aufgenäht, so dass die kleinen Gallengänge ihre Galle direkt in das Lumen des Jejunums sezernieren. Das andere bei der Durchtrennung aboral entstandene Ende wird circa 30 cm distal dieser Hepatoportoenterostomie End-zu-Seit anastomosiert. [54]



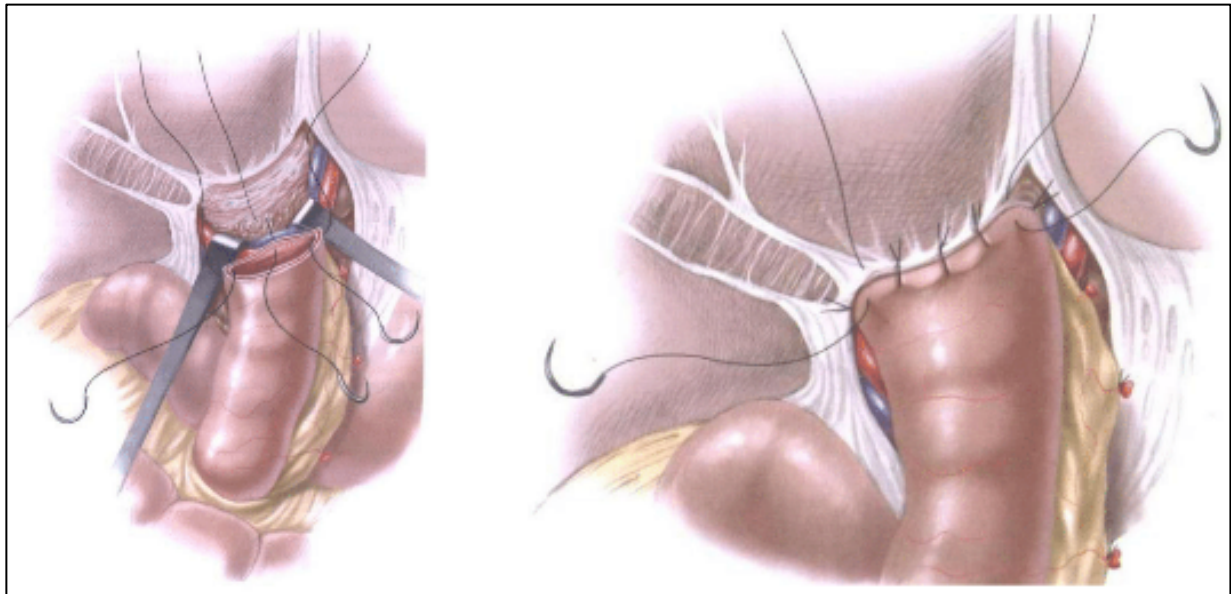


Abbildung 8: Hepatoportoenterostomie (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53])

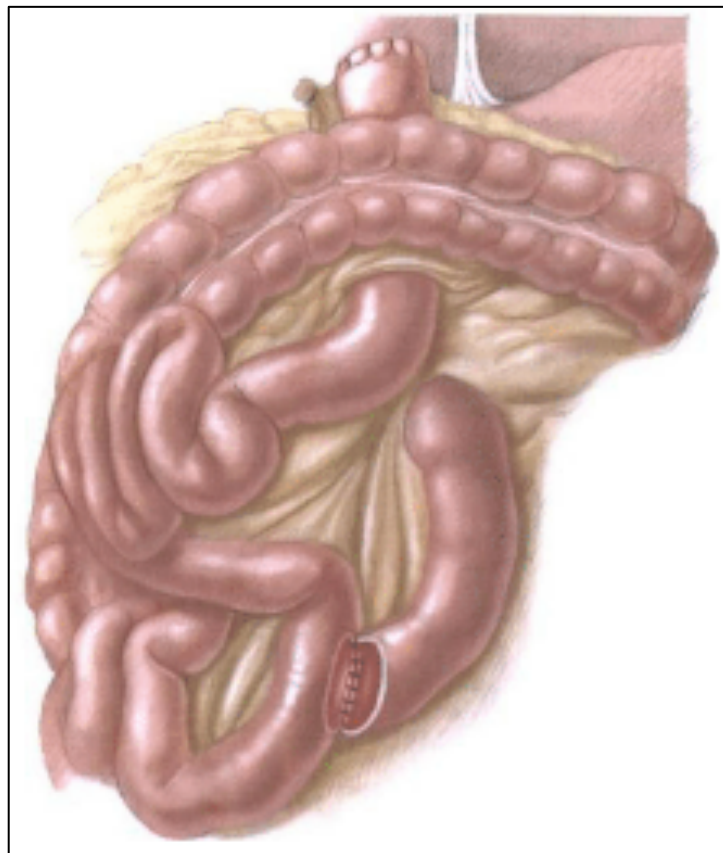


Abbildung 9: Dünndarmanastomose nach Y-Roux (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53])

#### 1.4.2 Modifikationen der Hepatoportoenterostomie nach Kasai

Bereits kurz nach der Etablierung dieses Originalverfahrens nach Morio Kasai wurde die Operation mehrfach modifiziert.

Sawaguchi veröffentlichte 1968 eine Variante der Hepatoportojejunostomie mit einer vorübergehenden externen Fistel. Hierfür wurde ein ungefähr 50 cm langer Jejunumschenkel mit einem versorgenden Gefäß an einem Ende mit der Leberpforte vernäht und am anderen aus der Bauchdecke ausgeleitet. Drei Monate später erfolgte die Rückverlagerung des Ausgangs, das distale Ende des Schenkels wurde aus der Bauchdecke exzidiert und mittels einer End-zu-Seit-Anastomose in Y-Roux-Form an das Jejunum angeschlossen. Diese Methode erwies sich als effektiv in der Vermeidung einer postoperativen Cholangitis, allerdings traten durch den Verlust der Galle regelmäßig Probleme mit dem Elektrolythaushalt der Säuglinge auf, was zu langen Krankenhausaufenthalten bis zur Rückverlagerung der Fistel führte. [54] Die Methode nach Sawaguchi wurde aufgrund dieses schwer beherrschbaren postoperativen Managements wieder verlassen.

Kasai selbst entdeckte Anfang der 70er Jahre, dass eine weitere Operationsmethode das Risiko einer postoperativen Cholangitis deutlich senken könnte. Falls sich intraoperativ herausstellte, dass zwischen Gallenblase und Duodenum ein durchgängiger Ductus choledochus bestand, konnte man anstelle einer Jejunumschlinge die Gallenblase auf die eröffnete Leberpforte aufnähen, was einen Reflux von Inhalt aus dem Duodenum, also den größten Risikofaktor für die Entwicklung einer aufsteigenden Cholangitis, praktisch ausschloss. Die Operationstechnik konnte allerdings aufgrund der Notwendigkeit eines patenten Gallenwegs nur an wenigen Kindern ausgeführt werden und es bestand ein hohes Risiko, dass sich der Gang postoperativ durch Blutthromben verschließen würde, sollte die Blutstillung bei Eröffnung der Porta hepatis nicht suffizient erfolgt sein. [54]

Die Operationsvariante wurde 1998 von Bates et al. [22] als der klassischen Hepatoportoenterostomie nach Kasai überlegen gewertet, ist allerdings nur bei wenigen Kindern möglich und wird heutzutage aufgrund des standardisierten Vorgehens nach Morio Kasai's Originalmethode um eine größtmögliche Erfahrung des Operateurs in dem Verfahren sicherzustellen nicht mehr angewandt.

### 1.4.3 Laparoskopische Hepatoportoenterostomie

Laparoskopische Operationsmethoden halten in den letzten Jahren auch in der Kinderchirurgie Einzug. Aufgrund einer relativ geringen Anzahl an laparoskopisch durchführbaren Eingriffen und der damit verbundenen langen Lernkurve und aufgrund der Notwendigkeit spezieller, an die kindliche Anatomie angepasster Instrumente, konnte sich die Laparoskopie hier noch nicht wie in der abdominellen Chirurgie des Erwachsenen ubiquitär durchsetzen. [55]

In der hepatobiliären Chirurgie kann das laparoskopische Vorgehen beispielsweise bei der operativen Sanierung von Choledochuszysten oder bei Cholezystektomien durchaus Vorteile bieten, was Outcome, kosmetisches Ergebnis und den postoperativen Krankenhausaufenthalt betrifft. Für andere hepatobiliäre Eingriffe, wie die Hepatoportoenterostomie, kann es aufgrund mangelnder Daten keine Empfehlung zur laparoskopischen Durchführung geben. [56]

Ure et al. veröffentlichten 2011 eine prospektive Studie zum Vergleich der offenen und der laparoskopischen Hepatoportoenterostomie. Die Studie musste aufgrund der signifikant höheren Rate an Lebertransplantationen innerhalb der ersten sechs Monate nach laparoskopischer Operationsmethode gestoppt werden. [57]

Auch ein 2017 von Hussain et al. veröffentlichter Review Article wies in seiner Analyse von zehn durchgeführten Studien zur laparoskopischen Hepatoportoenterostomie nach, dass das Outcome der laparoskopisch operierten Patienten hinsichtlich Überleben mit nativer Leber und Gesamtüberleben schlechter ist. Ebenso fand sich kein Nachweis, dass ein laparoskopisches Vorgehen günstiger zur Vermeidung von Adhäsionen im Hinblick auf zukünftige abdominelle Operationen ist. [58]

### 1.5 Histologie der Cholestase

Der durch die Gallengangatresie behinderte Abfluss von Galle aus der Leber bedingt nicht nur eine biochemische Cholestase mit einer Akkumulation von Substanzen im Blut, sondern auch eine morphologische Cholestase im Lebergewebe. Es kommt zu typischen histologischen Veränderungen des Parenchyms und der Portalfelder, die im Folgenden

erläutert werden. [59]

Durch den Rückstau der Gallenflüssigkeit kommt es zu mikroskopisch sichtbaren Ablagerungen im Gewebe. Dies beginnt mit intrazellulären Anhäufungen von Galleprodukten in perivenösen Hepatozyten und den angrenzenden geweiteten Canaliculi (kanalikuläre Cholestase), und kann sich bei länger andauerndem Verlauf bis auf die periportalen Regionen ausweiten und bei Neugeborenen und Kleinkindern zur Bildung von Rosettenformationen führen. Dabei handelt es sich um mehr als zwei Hepatozyten, die sich um einen geweiteten Canaliculus anordnen und Anschluss zu den physiologischen Gallenwegen suchen (siehe Abbildung 10). [59]

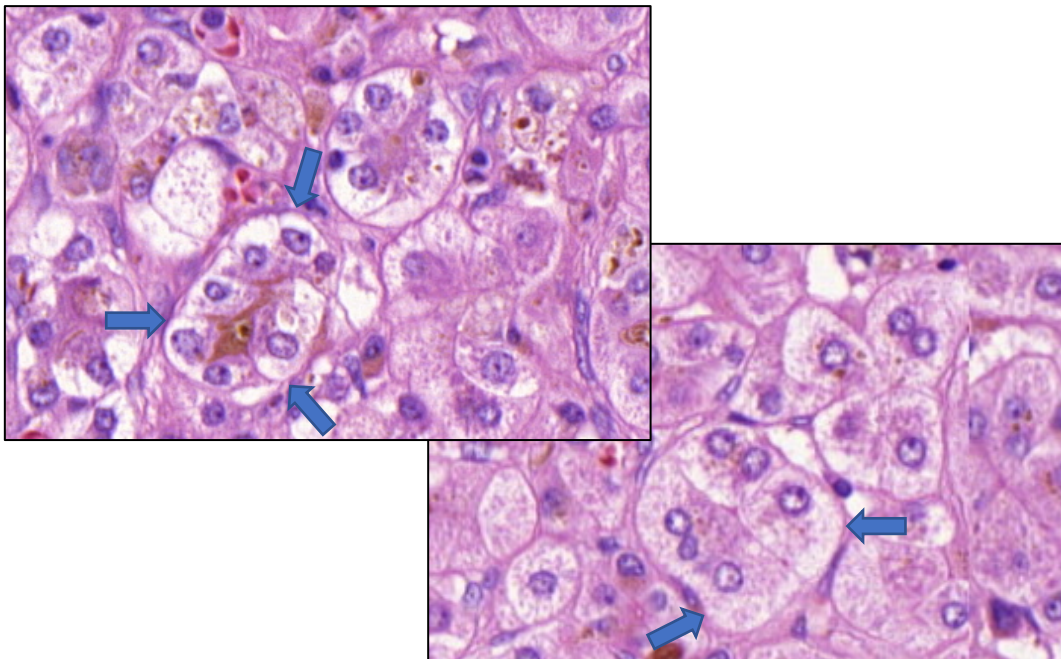


Abbildung 10: links oben Rosettenformationen, rechts unten blasige, weißliche Hepatozyten („feathery degeneration“)

Durch das Zurückhalten potenziell giftiger Gallekomponenten verändert sich auch das morphologische Erscheinungsbild der periportalen Hepatozyten, es kommt zu einer Cholestase. Diese äußert sich in einer „Feathery/ballooning degeneration“ (siehe Abbildung 10), mit blasig aufgeworfenen Hepatozyten, die im weiteren Verlauf ebenfalls sichtbar Bilirubin einlagern und apoptotisch werden. Begleitend können periportal Mallory Bodies auftreten, wie sie beispielsweise auch in der alkoholisch bedingten Leberzirrhose vorkommen. [60]

Ein früher Marker der durch die Cholestase bedingten Veränderungen in der Leber ist ein

verändertes Auftreten von Cytokeratin 7. In gesunden Lebern wird Cytokeratin 7, ein Intermediärfilament des Zytoskeletts, nur vom Epithel der Gallengänge ausgebildet (siehe Abbildung 11). Durch eine anhaltende Cholestase kommt es zu einer Proliferation von kleinen kompensatorischen Gallengängen und zu einer reaktiven duktilären Metaplasie der Hepatozyten, die im Zuge dieser Transformation ebenfalls Cytokeratin 7 exprimieren (siehe Abbildung 12). [61] Die immunhistochemische Anfärbung dieser Zellen mit monoklonalen Antikörpern kann der Evaluation des Ausmaßes der Schädigung des Parenchyms und der Neoductuli-Proliferation dienen. [62]

Yabushita et al. verwendeten die Färbung von CK-7 2001 in Leberbiopsien von Patienten mit Primärer Biliärer Zirrhose und unterteilten den Grad der Anfärbung in vier Stadien. Grad 0 entspricht einer physiologischen Verteilung in den Portalfeldern, Grad 4 einer ausgeprägten Farbreaktion in der Mehrzahl der Hepatozyten, in denen in gesunden Lebern überhaupt kein Nachweis des CK-7 erfolgen würde (siehe Abbildung 13). [63]

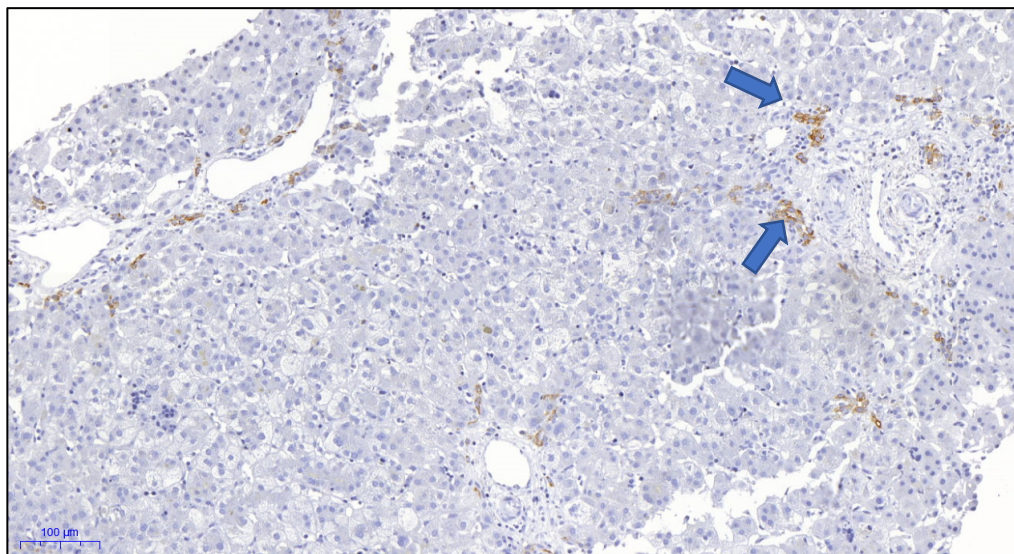


Abbildung 11: physiologische Verteilung des CK 7 (braun) in den Gallengansepithelien der Portalfelder

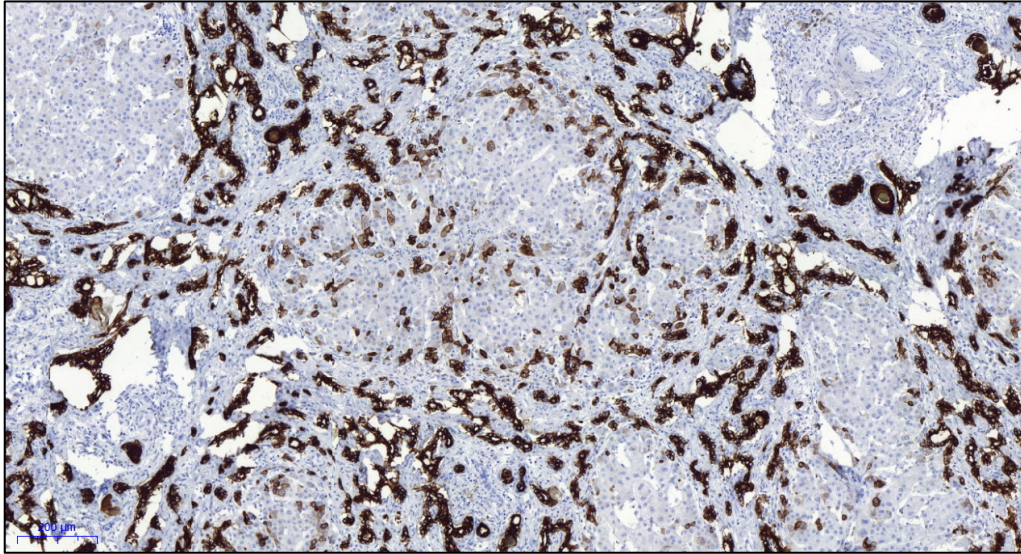


Abbildung 12: deutlich vermehrtes Vorkommen des CK 7 (braun) innerhalb der Portalfelder und der Leberläppchen

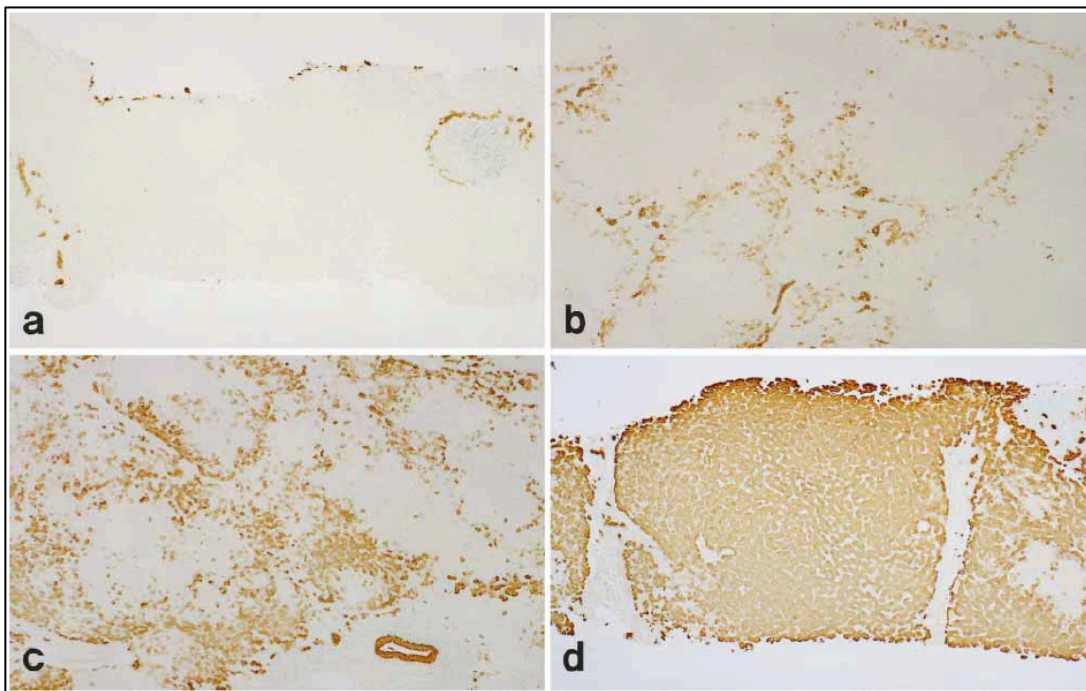


Abbildung 13: a) Grad 1, Expression in proliferierten Gallengängen in den Portalfeldern. b) Grad 2, Expression in periportalen Hepatozyten. c) Grad 3, Expression in intralobulären Hepatozyten. d) Grad 4, Diffuse Expression in der Mehrzahl der Hepatozyten aus Yabushita et al. [63]

Ein weiteres Merkmal der neonatalen Cholestase ist das Vorkommen von mehrkernigen Riesenzellen (siehe Abbildung 14), die beim Erwachsenen nur selten zu beobachten sind. Die genaue Ursache für ihre Entstehung ist unklar, es wird angenommen, dass zurückgehaltene Gallesalze zu einer Auflösung von Plasmamembranen führen. [59]

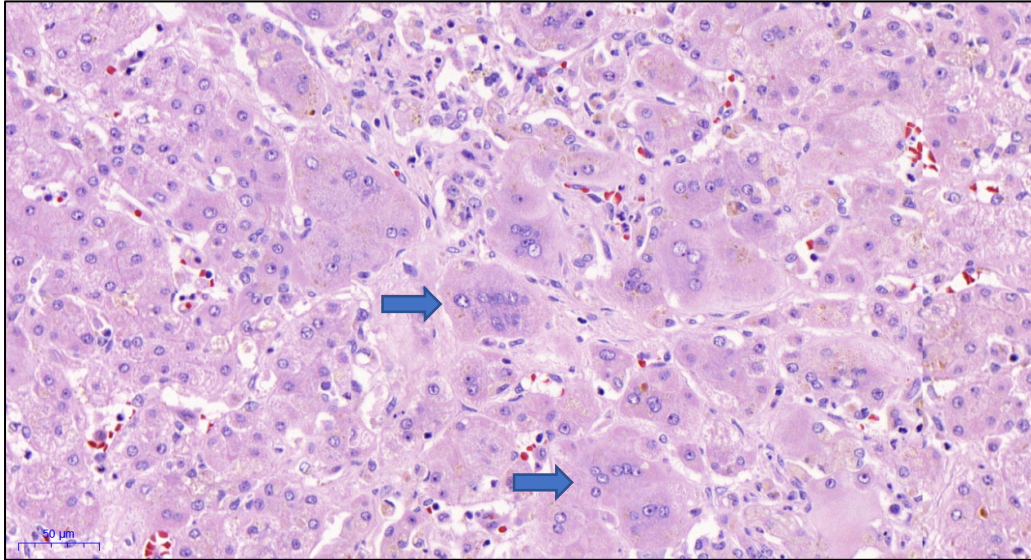


Abbildung 14: mehrkernige Riesenzellen

Auch auf die Portalfelder der erkrankten Lebern wirkt sich die Gallengangatresie mit dem damit einhergehenden Gallerückstau aus, sie vergrößern sich im Laufe der Erkrankung massiv und es kommt zur Ausbildung von Septen zwischen den einzelnen Feldern. Dies wird einerseits durch eine Proliferation von Gallengängen im Sinne eines Kompensationsmechanismus und ein die Erkrankung begleitendes Ödem bedingt. Weiterhin werden die die epithelausgekleideten Gallengänge umgebenden Fibroblasten durch die Cholestase aktiviert, und wandeln sich durch Ausbildung von Aktinfasern in Myofibroblasten um, die die Septen ausbilden. Bei Fortschreiten der Erkrankung entsteht somit eine ausgeprägte Fibrose, bis hin zur Zirrhose. [60]

Ein etabliertes Maß zur Quantifizierung des Grades der Fibrose in der Leber stellt beispielsweise der Ishak-Score dar. Dieser wurde erstmals 1995 von Kamal Ishak zur Evaluation von Leberbiopsien bei chronischen Hepatitiden beschrieben. Der neue Score erweiterte den nur aus vier Stufen bestehenden Histological Activity Index (HAI) nach Knodell [64], indem er das Ausmaß der Fibrose und Zirrhose auf einer Skala von 0 bis 6 beschrieb ( siehe Abbildung 15). [65]

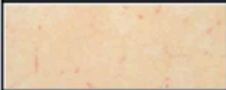

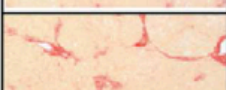


Appearance	Ishak stage: Categorical description	Ishak stage: Categorical assignment	Fibrosis measurement*
	No fibrosis (normal)	0	1.9%
	Fibrous expansion of some portal areas ± short fibrous septa	1	3.0%
	Fibrous expansion of most portal areas ± short fibrous septa	2	3.6%
	Fibrous expansion of most portal areas with occasional portal to portal (P-P) bridging	3	6.5%
	Fibrous expansion of portal areas with marked bridging (portal to portal (P-P) as well as portal to central (P-C))	4	13.7%
	Marked bridging (P-P and/or P-C), with occasional nodules (incomplete cirrhosis)	5	24.3%
	Cirrhosis, probable or definite	6	27.8%

Abbildung 15: Ishak-Score aus Germani et al. [66]

## 1.6 Prognoseparameter in der Literatur

### 1.6.1 Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie

Es existieren diverse Arbeiten in der Literatur, die sich damit auseinandersetzen, wann der ideale Zeitpunkt für eine Hepatoportoenterostomie nach Kasai ist und zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen. Von Bedeutung sind hier definierte Cut-off-Werte, also Testtrennwerte, anhand derer man ein Kollektiv in zwei sich im Outcome unterscheidende Gruppen einteilen kann.

Bereits 1979, wenige Jahre nach der Einführung der Operationsmethode, untersuchten Hitch et al. an einer Gruppe von 42 Patienten, ob das Alter der Kinder bei der Operation einen Einfluss auf das postoperative Überleben habe, und fanden heraus, dass ein Cut-off-Wert von 12 Wochen postpartal einen signifikanten Überlebensvorteil für die frühzeitig operierten Patienten erbrachte. [48]



Betrachtet man wissenschaftliche Veröffentlichungen zu diesem Thema in den folgenden Jahrzehnten, so sinkt der Cut-off-Wert bezüglich des Operationsalters tendenziell eher ab. Mieli-Vergani et al. gaben an, dass bei Kindern, die innerhalb der ersten acht Lebenswochen operiert werden, signifikant öfter ein postoperatives Verschwinden des klinisch erkennbaren Ikterus zu beobachten ist, als bei später operierten Patienten. [49] Chardot et al. legten 1999 einen Cut-off von 45 Tagen als vorteilhaft für ein möglichst langes Überleben ohne Lebertransplantation fest. [50]

Im selben Jahr postulierten Lally et al. anhand eines amerikanischen Patientenkollektivs einen ähnlichen Zusammenhang. Sie fanden heraus, dass ein Lebensalter von 61 Tagen zum Zeitpunkt der Kasai-Operation signifikant beeinflusste, ob der Galleabfluss aus der Leber postoperativ wiederhergestellt war. [67]

2003 zeigten Nio et al. in ihrer Arbeit, dass eine Operation vor dem Alter von 30 Tagen im Hinblick auf das Wiederherstellen eines Galleflusses die besten Ergebnisse liefert. Darüber fanden sie bis zu einem Alter von 90 Tage allerdings keinen Unterschied mehr im postoperativen Ergebnis, erst danach sanken die Erfolgsraten deutlich ab. [68]

Eine neuere Arbeit aus dem Jahr 2015 von Lin et al. zeigte, dass Kinder mit einem Alter bei Hepatoportoenterostomie von unter 60 Tagen im Nachbeobachtungszeitraum weniger wahrscheinlich lebertransplantiert werden mussten. [5]

### 1.6.2 Laborparameter

Ein viel diskutierter Laborwert im Zusammenhang mit dem Krankheitsverlauf der Gallengangatresie ist das Bilirubin, welches in mehreren Arbeiten einen prognostischen Wert zu haben scheint.

Pape et al. bestimmten in einer 2009 veröffentlichten Studie mit 53 Patienten die Bilirubinspiegel sechs Monate nach erfolgter Kasai-Operation und fanden heraus, dass ein Wert von unter 20 mol/L (entspricht ca. 1,176 mg/dl) mit hoher Sensitivität und Spezifität ein transplantatfreies Überleben voraussagen kann. [69]

Der Bilirubinwert drei Monate nach Operation scheint ebenfalls einen Zusammenhang mit einem langen Überleben mit der eigenen Leber zu haben. Shneider et al. bestimmten bei 137 Patienten das Gesamtbilirubin zu diesem Zeitpunkt und fanden heraus, dass 86%

der Patienten mit einem Wert unter 2,0 mg/dl bis zu einem Alter von zwei Jahren keine Transplantation benötigten. In der Gruppe mit Werten über 2,0 mg/dl drei Monate nach stattgehabter Kasai-Operation waren es hingegen nur 20%. [70]

Auch im kurzfristigen postoperativen Verlauf, kann der Wert des Serumbilirubins mit der Prognose verknüpft werden. Im Jahr 2005 stellte eine Arbeit von Utterson et al. fest, dass ein postoperativer Anstieg des Bilirubinwertes mit einer erhöhten Mortalität auf der Warteliste für eine Lebertransplantation zusammenhängt. [71]

Im Gegensatz zum postoperativen Anstieg als negativem Einfluss auf die Prognose, fanden Chusilp et al. 2015 heraus, dass ein Abfall des Gesamtserumbilirubins um über 20% im Vergleich zu präoperativen Werten positiv zu werten ist. Diese Patienten erreichten signifikant öfter ein transplantatfreies Überleben bis fünf Jahre nach Kasai-Operation. [72]

Goda et al. beschäftigten sich 2013 ebenfalls mit möglichen prognostisch nutzbaren Laborwerten, um ein transplantatfreies Überleben nach Kasai-Operation vorherzusagen. Sie fanden heraus, dass neben Bilirubin sowohl der GOT- als auch der GPT-Spiegel postoperativ eine gewissen Vorhersagekraft hatten. Patienten, die lebertransplantiert werden mussten, hatten einen, zwei und drei Monate nach der Operation nach Kasai signifikant höhere Werte. [73]

Aus den Werten der GOT und GPT kann der erstmals 1957 durch De Ritis et al. vorgestellte De-Ritis-Quotient berechnet werden. Teilt man die GOT durch die GPT, kann der erhaltene dimensionslose Wert als Indikator für das Ausmaß des Leberzelluntergangs herangezogen werden. Bei Werten von über 1,3 kann von einer schwerwiegenden Schädigung der Hepatozyten ausgegangen werden, da die zum Großteil in den Mitochondrien befindliche GOT dann in deutlich erhöhtem Maße freigesetzt wird. Der De-Ritis-Quotient kann unabhängig vom zugrunde liegenden Krankheitsbild in der Leberdiagnostik angewandt werden. [74]

### 1.6.3 Postoperativer Einsatz von Steroiden

Bereits Morio Kasai setzte in den frühen Jahren der operativen Versorgung der Gallengangatresie im postoperativen Verlauf immer wieder Steroide in verschiedenen Dosierungen ein. [75]

Im Verlauf der letzten Jahrzehnte beschäftigten sich mehrere Arbeiten mit der Thematik. Karrer et al. postulierten bereits 1985 einen Nutzen einer Hochdosis-Therapie mit Glucocorticoiden zur Verbesserung des postoperativen Galleflusses und zur Behandlung von Cholangitiden. [76] Eine 2013 veröffentlichte, verhältnismäßig große Studie an 380 nach Kasai operierten Kindern von Dong et al. verglich den Einsatz von Steroiden im Rahmen eines „low-dose-“ und eines intravenösen „high-dose-Behandlungskonzeptes“. Nach dem ausschleichenden intravenösen Einsatz von anfänglich bis zu 4 mg Prednisolon pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag folgte in der „high-dose-Gruppe“ eine weitere orale Behandlung mit Prednisolon über bis zu 12 Wochen. Es stellte sich heraus, dass die nach diesem Schema versorgten Kinder drei, sechs und zwölf Monate postoperativ signifikant öfter normwertige Bilirubinwerte vorweisen konnten. Zudem kam es im Verlauf zu weniger Cholangitiden und das Überleben mit der eigenen Leber war in der „high-dose-Gruppe“ signifikant länger. [77]

Im Jahr 2008 veröffentlichten Petersen et al. eine prospektive Studie, in die 49 Kinder nach Kasai-Operation eingeschlossen wurden. Die Experimental- und Kontrollgruppe unterschieden sich abgesehen von der medikamentösen postoperativen Behandlung nicht. Die Gruppe der Kinder, die postoperativ über vier Wochen in einer absteigenden Dosierung mit Methylprednisolon behandelt wurde, zeigte weder ein längeres Überleben mit der eigenen Leber, noch unterschieden sich die Bilirubinwerte nach sechs Monaten signifikant von der Gruppe der nicht mit Kortikosteroiden behandelten Kinder. [78]

Wie diese Beispiele illustrieren, ist die Wirkung einer Steroid-Therapie nach einer Operation nach Kasai nicht abschließend geklärt. Auch ein aktueller Review aus dem Jahr 2018 kann dies nicht abschließend klären, da zu wenig randomisierte Studien vorliegen. Um belastbare Ergebnisse zu produzieren, empfehlen die Autoren die Durchführung placebo-kontrollierter, prospektiver Studien. [79]

#### 1.6.4 Einführung des Pediatric end-stage liver disease Scoring Systems (PELD-Score)

Der PELD-Score stellt ein mathematisches Tool zur Einschätzung des voraussichtlichen Sterberisikos von Kindern unter zwölf Jahren mit Erkrankungen der Leber dar. Er berechnet sich aus dem Alter des Patienten, dem Bilirubinspiegel im Serum, dem INR (International Normalized Ratio), dem Albumin im Serum und einer eventuell vorliegenden Wachstumseinschränkung (siehe Formel 1). Analog zum für Erwachsene angewandten MELD-Score (Model for end-stage liver disease) kann der PELD-Score bei der Zuteilung von Lebertransplantationen eingesetzt werden. [80, 81]

$$\begin{aligned} PELD = & 0,436 (age < 1y) - 0,687 \times \ln\left(\text{albumin in } \frac{g}{dl}\right) \\ & + 0,480 \times \ln\left(\text{total bilirubin in } \frac{mg}{dl}\right) + 1,857 \times \ln(INR) \\ & + 0,667 (growth failure > 2 SD) \end{aligned}$$

Formel 1: PELD-Score

Bereits 2003 verwendeten Shinkai et al. in einer retrospektiven Datenanalyse den PELD-Score explizit im Hinblick auf Kinder mit Gallengangatresie. Sie analysierten damit die Wahrscheinlichkeit, nach einer Hepatoportoenterostomie nach Kasai im Verlauf lebertransplantiert werden zu müssen. [82]

Eine ganz ähnliche Studie führten 2012 Rhu et al. durch. Auch sie untersuchten die Wertigkeit des PELD-Scores im Hinblick auf Lebertransplantation bei Patienten, die an einer Gallengangatresie leiden. [83]

#### 1.7 Ziel der vorliegenden Arbeit

Das Ziel unseres Projektes soll es sein, durch die retrospektive Analyse der vorliegenden klinischen und paraklinischen Daten von 26 Kindern mit Gallengangatresie Parameter auszumachen, die die Prognose der Kinder vorhersehbarer machen. Bisher beruht beispielsweise die Entscheidung, ob eine Operation nach Kasai eine Lebertransplantation auf ein späteres Alter hinauszögern kann oder ob eine primäre und somit einfacher

durchführbare Transplantation angezeigt wäre, auf der klinischen Erfahrung des behandelnden Arztes und einer subjektiven Zusammenschau der verschiedenen Befunde, da keine einzelnen belastbaren Faktoren bekannt sind, die die Entscheidung vereinfachen.

Das zur Verfügung stehende Untersuchungskollektiv ist aufgrund der Seltenheit der Krankheit klein, die Studie soll somit als eine Art Vorarbeit angesehen werden, deren Ergebnisse eine bestimmte Richtung andeuten können. Größere prospektive Multicenter-Studien müssen in Zukunft angeschlossen werden, um statistisch signifikantere, eindeutige Ergebnisse zu erlangen.

Einen großen Teil der Studie nimmt die histopathologische Beurteilung der Lebern der betroffenen Patienten ein. Uns liegen entnommene Leberpräparate sowohl vom Zeitpunkt der Kasai-Operation als auch von der bei der Mehrheit der Patienten bereits erfolgten Lebertransplantation vor, die bereits histologisch aufgearbeitet und neu gefärbt wurden. Diese werden nach verschiedenen Gesichtspunkten bewertet, um hier Faktoren zu finden, die möglichst früh eine genauere Vorhersage des Krankheitsverlaufs ermöglichen. Es soll so unter anderem die Korrelation zwischen dem PELD-Score (Pediatric Endstage Liver Disease-Score) und dem histologischen Zustand der Leber zu beiden Zeitpunkten hergestellt werden. Falls sich eine gute Aussagekraft des PELD-Scores im Hinblick auf den Zustand der kindlichen Lebern und somit die Dringlichkeit einer eventuell zu erfolgenden Lebertransplantation herausstellt, kann dieser in Zukunft womöglich in der Klinik als ein Mittel zur verhältnismäßig einfachen Evaluation der Patienten herangezogen werden.

Auf lange Sicht kann durch das Ausmachen von den Krankheitsverlauf determinierenden Parametern womöglich auch ein Beitrag zur besseren Aufklärung der Ursachen der Biliären Atresie geleistet werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Untersuchungskollektiv und Studiendesign

Zwischen April 2009 und September 2015 befanden sich in der Klinik St. Hedwig insgesamt 57 Patienten zur diagnostischen Abklärung eines Verdachts einer Gallengangatresie. Sie wurden alle nach dem in Absatz 1.3.1 bereits beschriebenen diagnostischen Pfad untersucht. Wenn in der ERCP keine extrahepatischen Gallengänge darstellbar waren, wurde eine Hepatoportoenterostomie nach Kasai durchgeführt.

Gegenstand der Untersuchungen waren präoperative Untersuchungen, Daten aus den Follow-up Untersuchungen in den Monaten nach der Kasai-Operation und zum Zeitpunkt der Lebertransplantation und die Histologie der Leber.

Der Endpunkt der Auswertungen ist Dezember 2016.

### 2.2 Retrospektive Datenerhebung von Blutuntersuchungen

Von den Patienten in der Studie wurden im Erkrankungsverlauf spezifische Laborwerte analysiert. Die Kinder wurden während des stationären Aufenthalts in der Klinik St. Hedwig und zu den regelmäßig stattfindenden ambulanten Kontrollen bei KUNO am Universitätsklinikum Regensburg erfasst. Von den innerhalb der ersten zwei Jahre nach Kasai-Operation bereits am Unversitätsklinikum Regensburg lebertransplantierten Kindern liegen ebenfalls die Laborwerte zum Zeitpunkt der Transplantation vor.

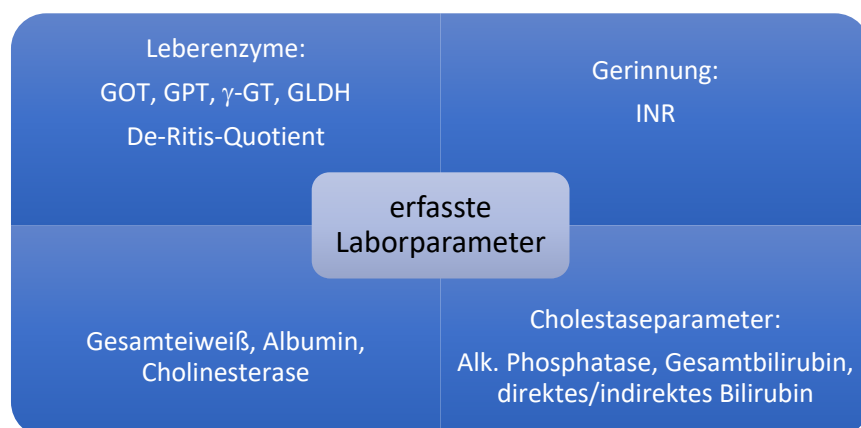


Tabelle 4: in der Studie erfasste Laborparameter

Die Werte der Leberenzyme und die Berechnung des De-Ritis-Quotienten dienen der Schätzung des Ausmaßes der Leberzellschädigung. [74] Der INR kann wie auch Eiweiß, Albumin und Cholinesterase als Maß für die Syntheseleistung der Leber herangezogen werden. Zusätzlich ermöglicht die Auswertung von Alkalischer Phosphatase und Bilirubin eine Einschätzung des Cholestasegrades.

## 2.3 Abdomensonographie

Es wurden die Daten der vor Kasai-Operation routinemäßig durchgeführten Sonographie des Abdomens ausgewertet. Die in Textform vorliegenden Befunde wurden in drei Kategorien eingeteilt, um einen statistischen Vergleich möglich zu machen (siehe Tabelle 5).

Leberparenchym	Gallenblase	Milz
<ul style="list-style-type: none"><li>•Echogenität</li><li>•Struktur</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Darstellbarkeit</li><li>•Anfüllung bei Nahrungskarenz</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>•Größe</li><li>•Struktur</li></ul>

Tabelle 5: Kategorien der Auswertung der Abdomensonographie

## 2.4 Histologische Untersuchungen der Leberbiopsien

### 2.4.1 Entnahmezeitpunkte

Die uns vorliegenden Leberpräparate wurden zu zwei verschiedenen Zeitpunkten entnommen.

Bei dem ersten Präparat handelt es sich um die Leberstanzbiopsie, die während der Kasai-Operation bei allen Säuglingen gewonnen wurde. Bei den Kindern, die bereits lebertransplantiert wurden, liegen außerdem Proben der explantierten Lebern vor. Die asservierten Gewebestücke wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie am Uniklinikum Regensburg gesichtet und die geeigneten Präparate histologisch erneut aufbereitet und nach folgenden Verfahren gefärbt. Die verwendeten Färbeprotokolle der drei verschiedenen Methoden finden sich im Anhang.

### 2.4.2 Färbung der Schnitte mit Pikro-Siriusrot

Bei der Färbung mit Pikro-Siriusrot handelt es sich um eine Bindegewebsfärbung, die die Quantifizierung einer vorhandenen Fibrose vereinfacht. Das Gewebe wird mit einer Siriusrot-Lösung (0,1%) in wässriger Lösung von Pikrinsäure bearbeitet, hierbei färbt sich das Kollagen rot und Muskelfasern oder Zytoplasma gelb. Dies erklärt sich durch eine Diffusion der Siriusrot-Moleküle in die Kollagenfasern, die im übrigen Gewebe wesentlich langsamer erfolgt. Die Pikrinsäure verstärkt diesen Mechanismus auf eine bisher unbekannte Weise.

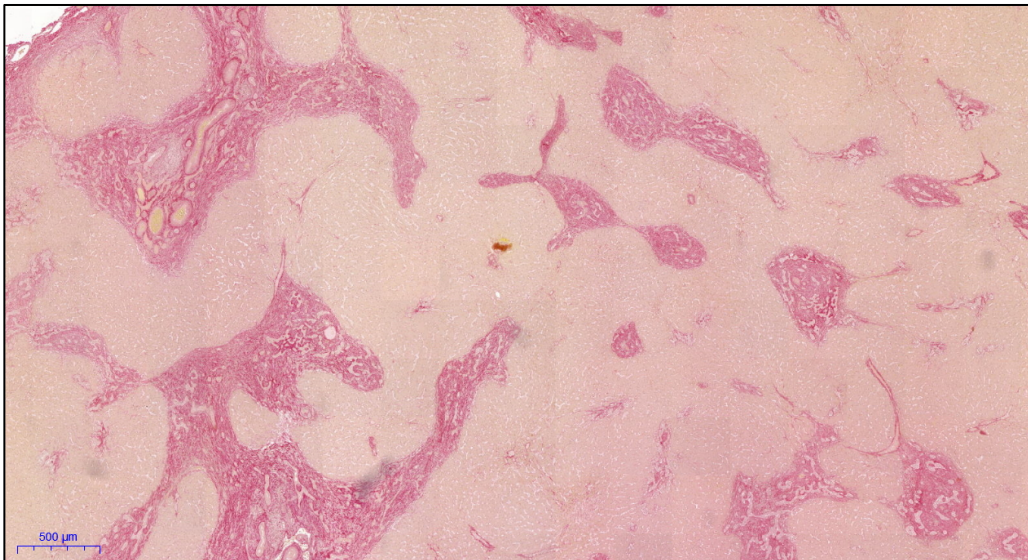


Abbildung 16: Färbung mit Pikro-Siriusrot

### 2.4.3 Immunhistochemie Proliferationsmarker CK 7

Das Cytokeratin-7 (CK-7) ist ein Intermediärfilament des Zytoskeletts, das in der Leber typischerweise in Gallengangsepithelien vorkommt und in gesunden Lebern auch nur dort histologisch nachweisbar ist (vgl. Abschnitt 1.5). Die Darstellung erfolgt mit Hilfe spezifischer Antikörper, die an das Cytokeratin binden und es mit einem Farbstoff sichtbar machen. Durch eine chronische Cholestase kommt es im Lebergewebe zu einer Proliferation von kleinen Gallengängen und folglich einem erhöhten Vorkommen von Cytokeratin 7.



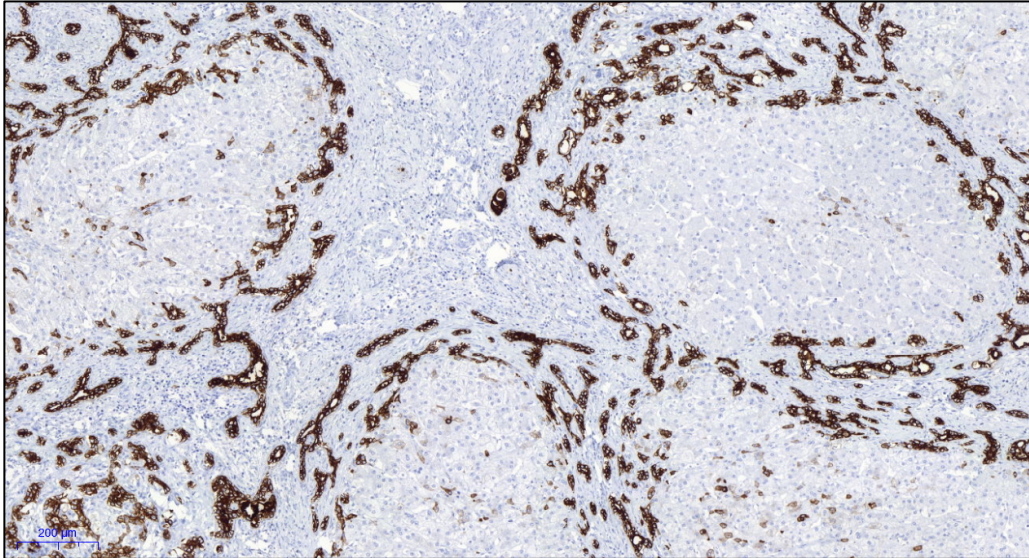


Abbildung 17: CK-7 Expression

#### 2.4.4 Auswertungen am HE-Präparat

Von allen Proben lagen Standardfärbungen mit Hämatoxylin-Eosin vor, anhand derer verschiedene die Hepatozyten betreffende Auswertungen getroffen wurden.

Untersucht wurde das Vorkommen von Riesenzellen in den Präparaten, die Einteilung erfolgte auf einer Skala von null bis zwei, wobei null für keinerlei Nachweis von Riesenzellen steht, eins ein vereinzelt Vorkommen repräsentiert und ein Wert von zwei einer deutlichen Ausprägung entspricht.

Ein weiterer Parameter zur Abschätzung der durch die Cholestase hervorgerufenen Schädigung der Hepatozyten ist das Auftreten von Rosettenformationen. Hierbei ordnen sich die Hepatozyten kreisrund an, in der Mitte dieser Formation findet man oft bereits einen Gallepfropfen. Auch hier erfolgte die Einteilung auf einer Skala von null bis zwei, analog zur Untersuchung der Riesenzellen (siehe Abbildung 18).

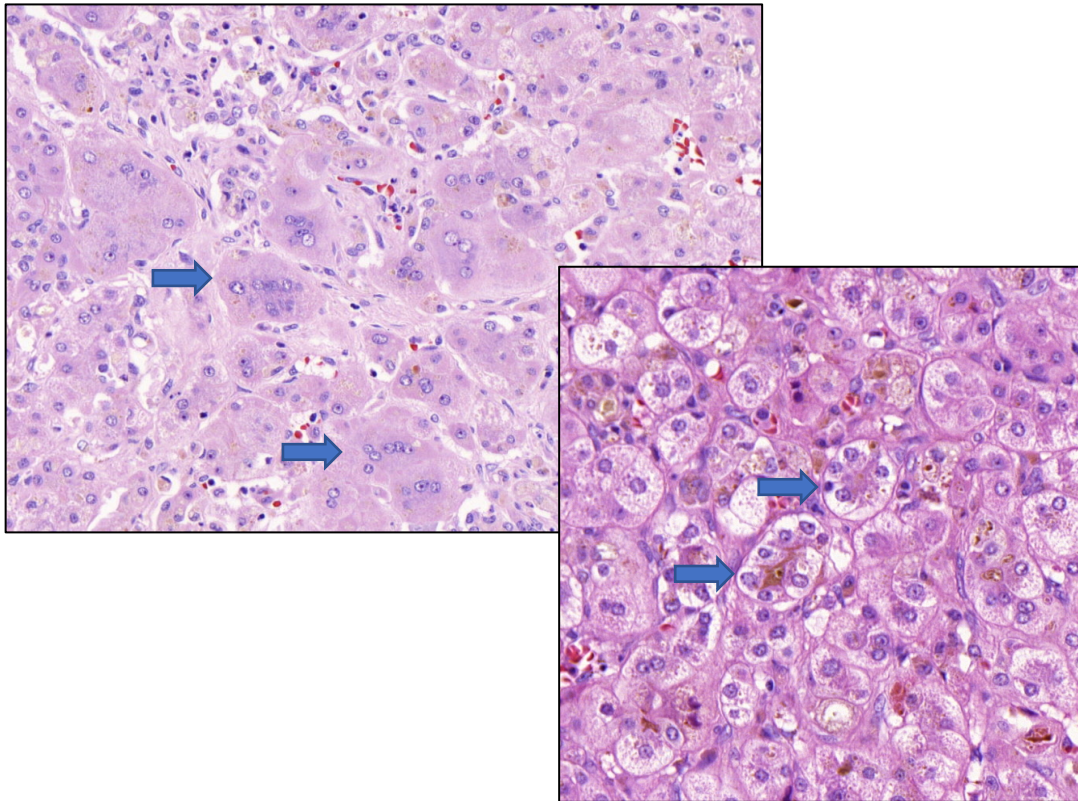


Abbildung 18: links oben mehrkernige Riesenzellen, rechts unten Rosettenformationen (mit Pfeilen markiert)

## 2.5 Berechnung des PELD-Scores

Anhand der erhobenen Laborwerte, des Alters, des Gewichts und der Größe der Patienten erfolgte zur genauen Untersuchung die Berechnung des PELD-Scores. Hierbei wurden sämtliche in dieser Arbeit verwendeten Werte mit dem MedCalc 3000-System der Firma Merck&Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA berechnet.

## 2.6 Statistische Methoden

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit IBM SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 25.0 für Mac. Zur Herstellung von Korrelationen zwischen den verschiedenen Parametern wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman verwendet. Zum Vergleich der zentralen Tendenzen der einzelnen untersuchten

Parameter in den Gruppen der transplantierten und der bisher nicht transplantierten Kinder wurde der Mann-Whitney-U-Test herangezogen. Um einen Vergleich innerhalb derselben Gruppe zu verschiedenen Zeitpunkten möglich zu machen, beispielsweise um präoperative Werte mit denen bei der Kontrolluntersuchung nach drei Monaten zu vergleichen, wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Zusammensetzung des Untersuchungskollektivs

Von den 56 untersuchten Patienten bestätigte sich bei 39 in der ERCP die Diagnose einer Gallengangatresie. Da die Klinik St. Hedwig aufgrund der Möglichkeit zur ERCP ein diagnostisches Zentrum ist, wurden sechs der Kinder danach wieder an die zuweisenden externen Kliniken zurückverlegt. Bei sieben Kindern wurde eine primäre Lebertransplantation vorgenommen. Bei 26 Patienten erging die Entscheidung zur Hepatoportoenterostomie nach Kasai.

Bei den Patienten, die keine Gallengangatresie aufwiesen, bestätigten sich Diagnosen wie etwa das Alagille-Syndrom, eine Choledochuszyste, eine Cholangiodysplasie, eine Choledochozele, Formen der sklerosierenden Cholangitis, eine Gallenganghypoplasie oder ein Syndrom der eingedickten Galle (siehe Tabelle 6).

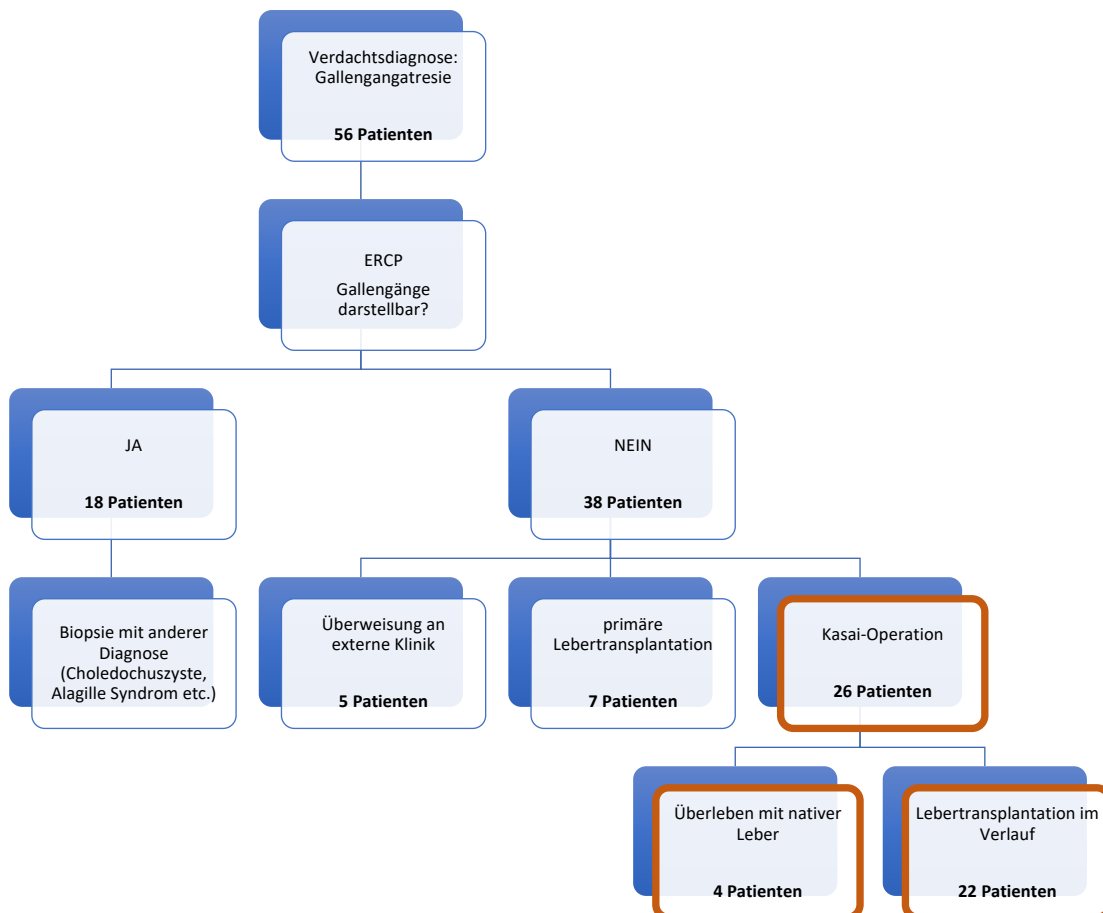


Tabelle 6: Aufbau des Untersuchungskollektivs

Von den 26 Patientinnen und Patienten sind zum Endzeitpunkt der Untersuchungen noch 23 am Leben. Eine Patientin verstarb neun Tage nach Lebertransplantation an trotz Obduktion unklaren Blutungen im Thorax und Abdomen, zwei weitere Säuglinge verstarben ebenfalls nach erfolgter Lebertransplantation an einer nicht kontrollierbaren Infektion mit anschließender Sepsis und Organversagen.

### 3.2 Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie

Die 26 Patienten, die zwischen April 2009 und September 2015 in der Klinik St. Hedwig nach Kasai operiert wurden, wurden im Median im Alter von 52 Tagen operiert (R=16-91, SD=21,776, n=26; siehe Abbildung 19).

Der postoperative stationäre Aufenthalt auf Intensiv- und Normalstation betrug im Median 14,5 Tage (R=9-45, SD=8,679).

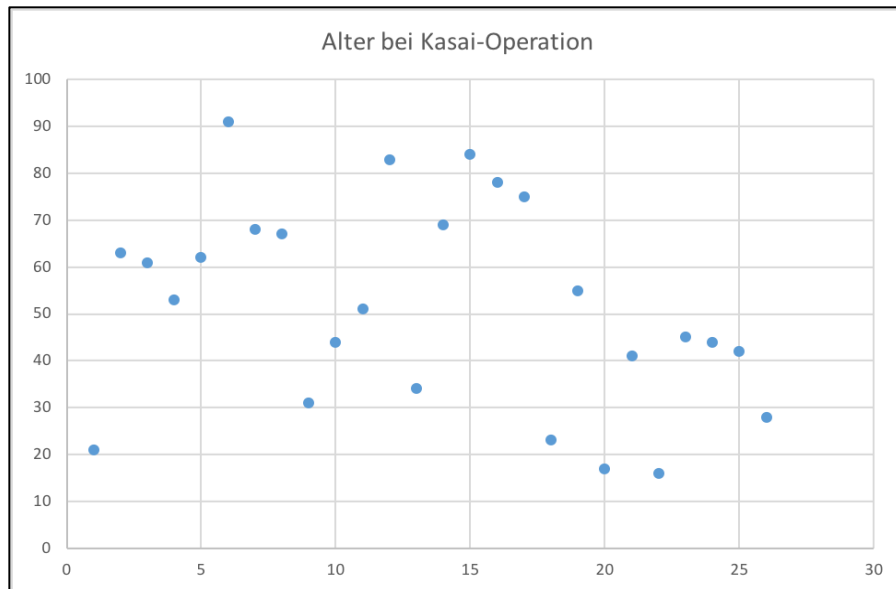


Abbildung 19: Altersverteilung zum Zeitpunkt der Kasai-Operation (x-Achse: Patientenfallnummer, y-Achse: Alter in Tagen)

Vergleicht man die beiden Subgruppen „transplantierte“ vs. „nicht transplantierte“ Patienten, fällt auf, dass die vier Studienpatienten, die im Verlauf nicht lebertransplantiert werden mussten, signifikant früher nach Kasai operiert wurden, als die 22 bereits transplantierten Kinder (exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-2,843$ ,  $p=0,002$ ). Im Median

wurden sie im Alter von 22 Tagen operiert ( $R=17-28$ ,  $SD=4,573$ ,  $n=4$ ), wohingegen die Hepatoportoenterostomie bei der Gruppe der transplantierten im Mittel am 57. Lebensstag ( $R=16-91$ ,  $SD=19,114$ ,  $n=22$ ) durchgeführt wurde (siehe Abbildung 20).

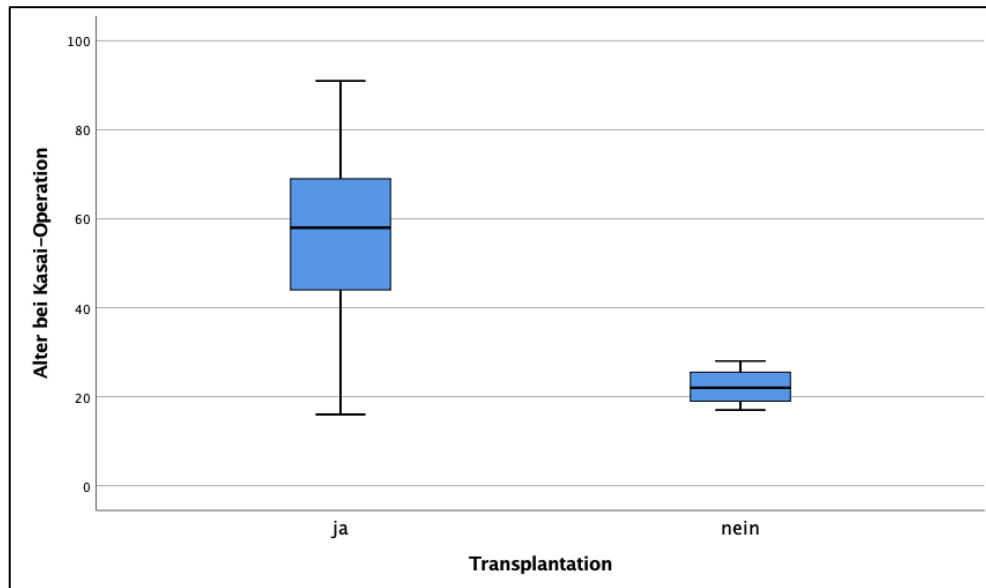


Abbildung 20: Boxplot über den Zusammenhang von Alter bei Kasai-Operation und Transplantationsstatus

Um anhand des Operationstages vorherzusagen, ob ein Kind in den nächsten Jahren bereits transplantiert werden muss, kann ein Cut-off-Wert von 30 Tagen verwendet werden (Sensitivität 95,5%, Spezifität 100%). Der negativ prädiktive Wert beträgt 80%.

### 3.3 Fortgang bis zur Lebertransplantation

Von den 26 untersuchten Patienten mussten 22 im Verlauf nach der Hepatoportoenterostomie lebertransplantiert werden.

Im Median erfolgte die Transplantation nach 141 Tagen ( $R=28-639$ ,  $SD=127,596$ , siehe Abbildung 21).

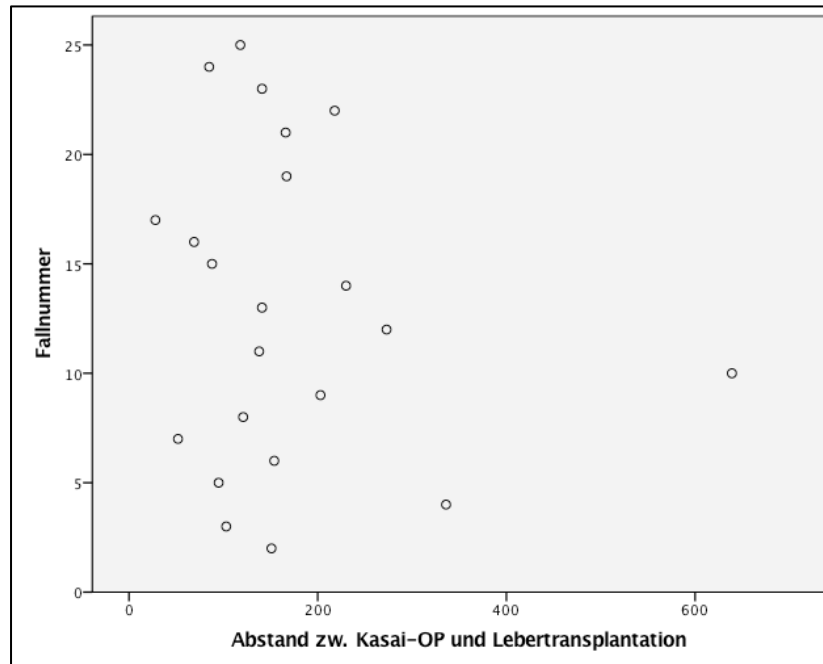


Abbildung 21: Zeitverlauf zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation für jeden einzelnen Studienpatienten

Das Alter zum Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie und der Abstand bis zur Lebertransplantation korrelieren bei den 22 transplantierten Patienten ( $r=-0,298$ ,  $p=0,178$ ,  $n=22$ ). Je später die Patienten erstmalig operiert wurden, desto eher mussten sie lebertransplantiert werden. Es zeigte sich ein schwacher negativer Effekt und es konnte aufgrund der geringen Stichprobengröße kein statistisch signifikanter Zusammenhang hergestellt werden.

141 Tage nach Kasai-Operation waren 50% der Kinder lebertransplantiert, die Wahrscheinlichkeit ein Jahr postoperativ mit der eigenen Leber zu überleben lag bei unter 10%. Dies war bei zwei Patienten der Fall (siehe Abbildung 22).

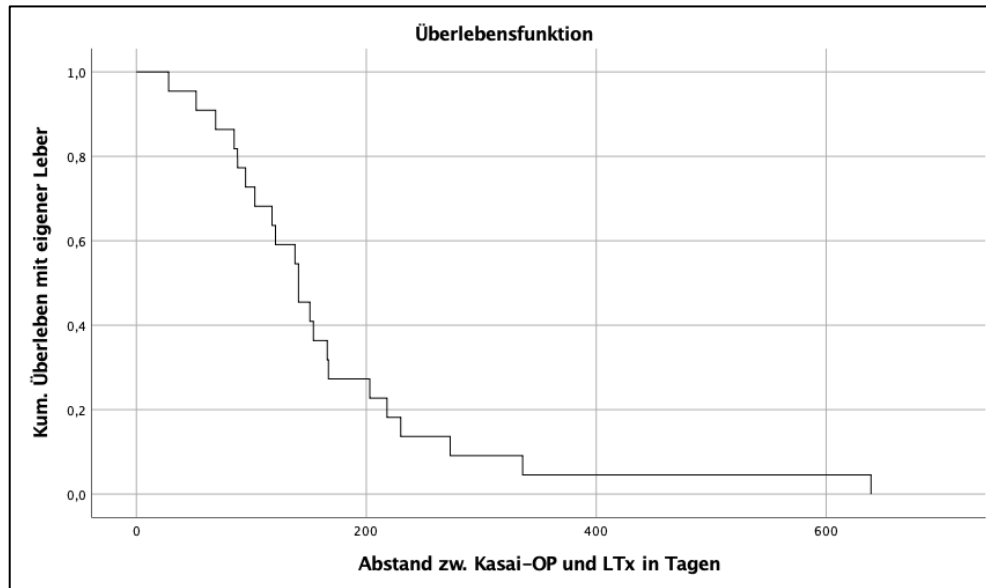


Abbildung 22: Überlebensverlauf mit eigener Leber mit Endpunkt Transplantation

### 3.4 Befunde der Abdomensonographien

#### 3.4.1 Beurteilung des Leberparenchyms

Es fanden sich in 20 der vorhandenen 23 Befunde über die an den Studienpatienten vor der Durchführung der Kasai-Operation vorgenommenen Sonographien Angaben zum Zustand des Leberparenchyms.

Bei acht Patienten wurde die Struktur und Echogenität der Leber als auffällig beschrieben, bei 12 Patienten war sie zu diesem Zeitpunkt noch als unauffällig zu bewerten (siehe Tabelle 7).

Es ergab sich keinerlei prognostische Relevanz dieser präoperativen sonographischen Erkenntnisse.



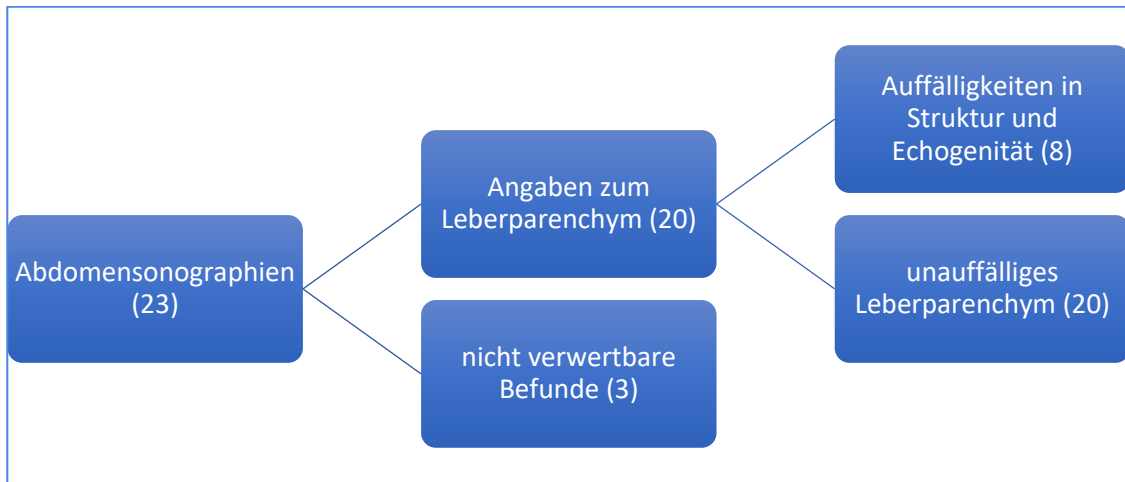


Tabelle 7: sonographische Beurteilung des Leberparenchyms (Anzahl)

### 3.4.2 Darstellbarkeit der Gallenblase

In sieben von 23 Fällen war bei der Sonographie nach Einhaltung einer mindestens vierstündigen Nahrungskarenz keine Gallenblase darstellbar.

Von den 16 verbleibenden Patienten mit einer erkennbaren Gallenblasenstruktur war diese in 13 Fällen mit einer Größe von unter 1,5 cm deutlich zu klein, somit war bei insgesamt 20 von 23 Kindern die Gallenblase auffällig (siehe Tabelle 8).

Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Konfiguration der Gallenblase und dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ( $r=-0,428$ ,  $p=0,042$ ,  $n=23$ ). Die Patienten mit einer in der Sonographie als unauffällig beschriebenen Gallenblase wurden im Median mit 78 Tagen operiert ( $R=63-83$ ,  $SD=10,408$ ,  $n=3$ ), die Patienten mit einer deutlich zu kleinen oder nicht darstellbaren Gallenblase bereits im Alter von 44,5 Tagen ( $R=16-91$ ,  $SD=21,447$ ,  $n=20$ ; siehe Abbildung 23).

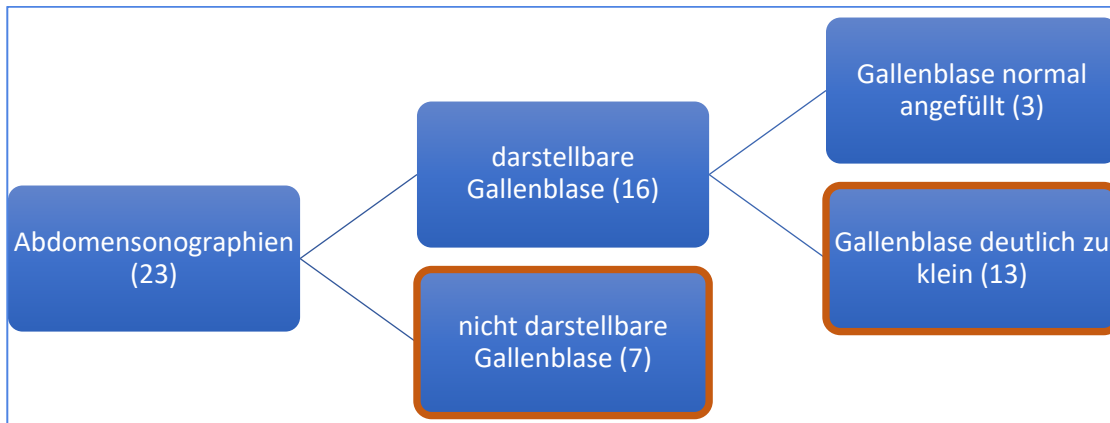


Tabelle 8: sonographische Beurteilung der Gallenblase

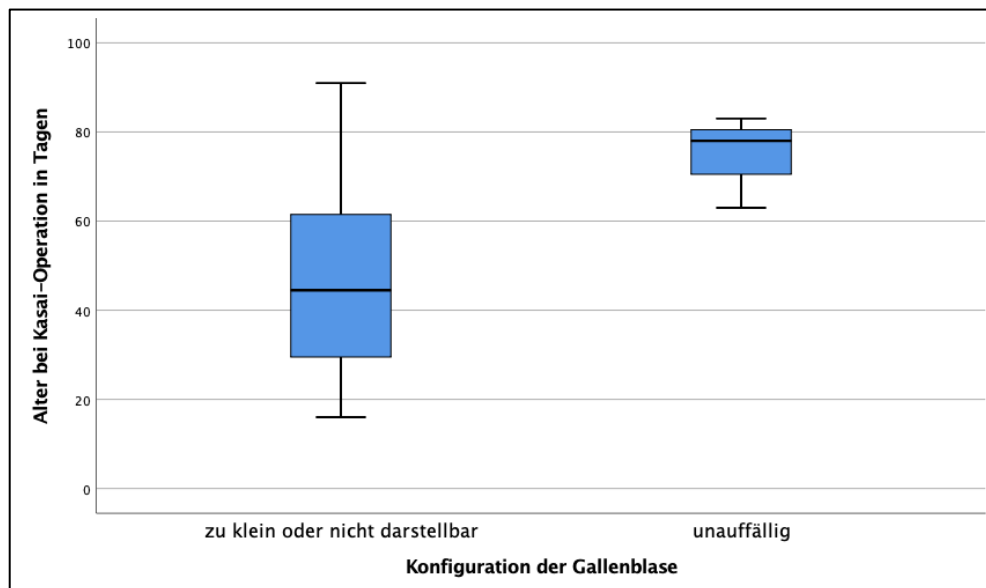


Abbildung 23: Konfiguration der Gallenblase bei der präoperativen Sonographie des Abdomens

### 3.4.3 Befundung der Milz

Bei 17 Patienten wurde in den Ultraschallbefunden die Struktur und Größe der Milz mitbewertet. Sie war in 16 Fällen als unauffällig beurteilt worden, nur bei einem Patienten war die Milz im Sinne einer portalen Hypertonie vergrößert. Dieser Patient war bei seiner Kasai-Operation 91 Tage alt und wurde somit zum spätesten Zeitpunkt aller Studienteilnehmer operiert.

### 3.5 Auswertung der Leberenzyme hinsichtlich prognostischer Aussagekraft

#### 3.5.1 GOT, GPT und $\gamma$ -GT vor Hepatoportoenterostomie

Die Werte der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) lagen bei den 26 Patienten am Tag vor der Operation nach Kasai zwischen 48 U/l und 604 U/l (M=163,00, SD=112,508, n=26). Je früher die Patienten operiert wurden, desto niedriger lag die GOT ( $r=0,780$ ,  $p=0,000$ ,  $n=26$ ; siehe Abbildung 24).

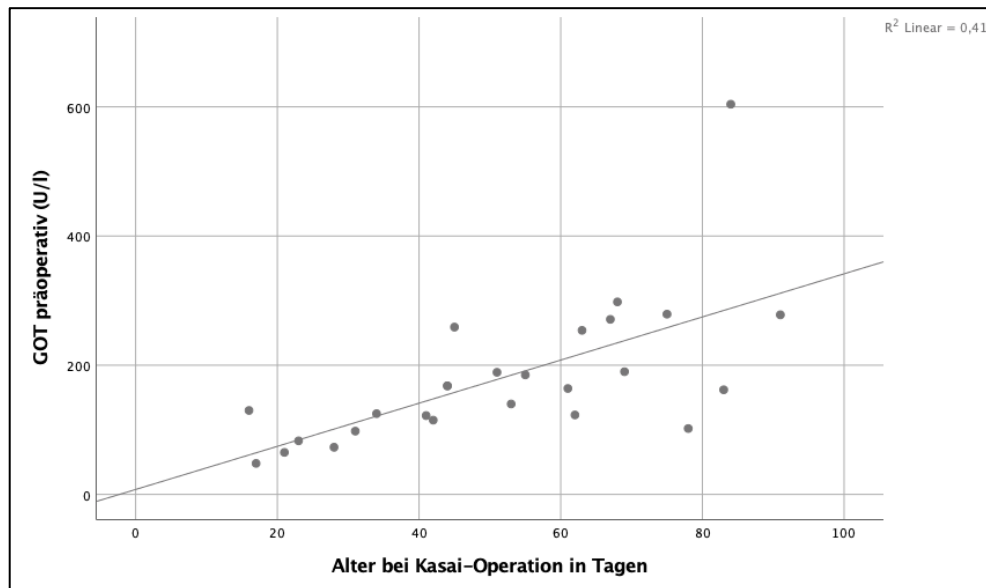


Abbildung 24: Werte der GOT aller Patienten vor der Operation nach Kasai

Ähnliche Ergebnisse wie bei der GOT liegen erwartungsgemäß für die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) vor.

Sie lag am Tag vor der Kasai-Operation zwischen 26 U/l und 401 U/l (M=106,00, SD=79,100, n=26). Auch hier war die Höhe des Werts signifikant mit dem Zeitpunkt der Operation korreliert ( $r=0,677$ ,  $p=0,000$ ,  $n=26$ ; siehe Abbildung 25). Je später die Patienten nach Kasai operiert wurden, desto höher lag der Wert der GPT.

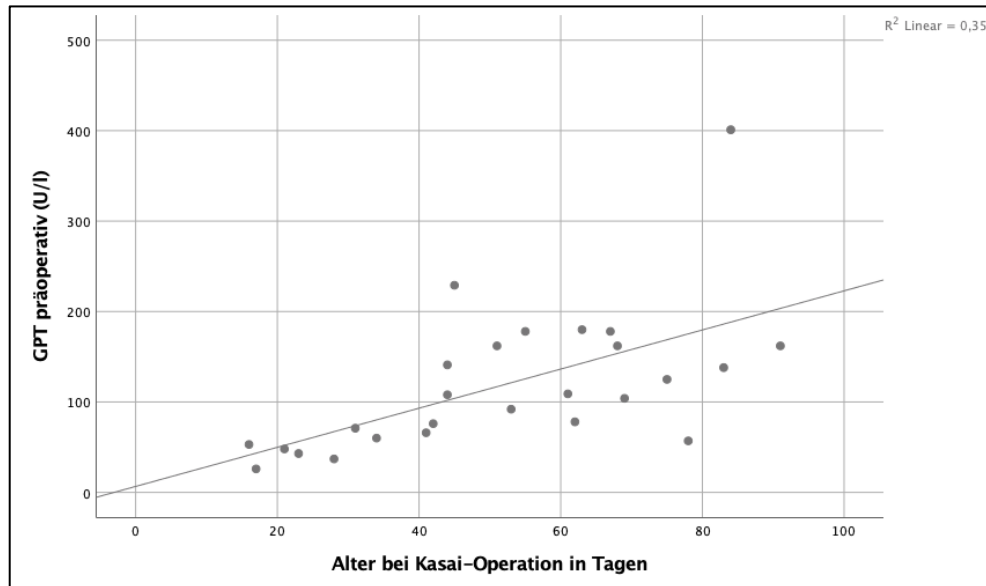


Abbildung 25: Werte der GPT aller Patienten vor der Operation nach Kasai

Zur weiteren Beurteilung der Leber wurden ebenso die Werte der  $\gamma$ -Glutamyltransferase bei den 26 Patienten analysiert.

Die Werte lagen vor der Operation nach Kasai bei Werten zwischen 46 U/l und 1465 U/l (M=447,00, SD=300,299, n=26).

Die erhobenen Werte der GOT, GPT und  $\gamma$ -GT zeigten zu diesem Zeitpunkt keinen Zusammenhang mit der Zeitdauer des Überlebens mit der eigenen Leber.

### 3.5.2 GOT, GPT und $\gamma$ -GT im Verlauf

Im Verlauf bis zur Lebertransplantation stiegen die Werte der GOT im Median auf 187,5 U/l an (R=69-697 U/l, SD=165,894, n=18). Die GPT lag bei Werten zwischen 21 U/l und 414 U/l (M=101,00, SD= n=21).

Die Werte der  $\gamma$ -GT lagen zum Zeitpunkt der Lebertransplantationen zwischen 52 U/l und 825 U/l (M=119,00, SD=183,474, n=17). Sie sanken im Vergleich zu vor der Operation nach Kasai im Mittel signifikant um 292,92 U/l (exakter Wilcoxon-Test: z=-3,053, p=0,001, n=17, siehe Abbildung 26).

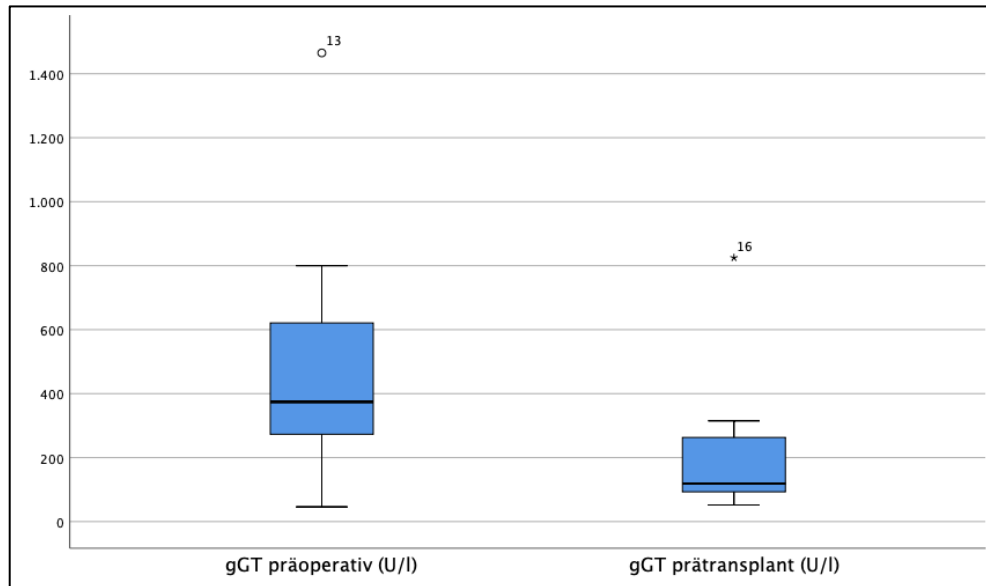


Abbildung 26: Boxplot über die Werte der  $\gamma$ -GT vor Kasai-Operation und vor Lebertransplantation

### 3.5.3 Leberenzyme im Vergleich zwischen transplantierten und nicht transplantierten Patienten

Im Median lag die GOT bei den 22 im Verlauf lebertransplantierten Patienten vor der Operation nach Kasai bei 168 U/l (R=98-604, SD=110,230, n=22), die der Patienten, die bis heute ohne Lebertransplantation auskommen lagen im Median bei 69 U/l (R=48-83, SD=14,796, n=4). Jeder der vier Einzelwerte lag unter dem niedrigsten Wert der transplantierten Untergruppe. Der Unterschied von 99 U/l in den Medianen war statistisch hochsignifikant (exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-3,127$ ,  $p=0,000$ , siehe Abbildung 27). Der Cut-off-Wert, ob eine Transplantation erfolgen muss oder nicht, liegt laut diesen Daten zwischen einem GOT-Spiegel von 83 U/l und 98 U/l (Sensitivität 100%, Spezifität 100%).

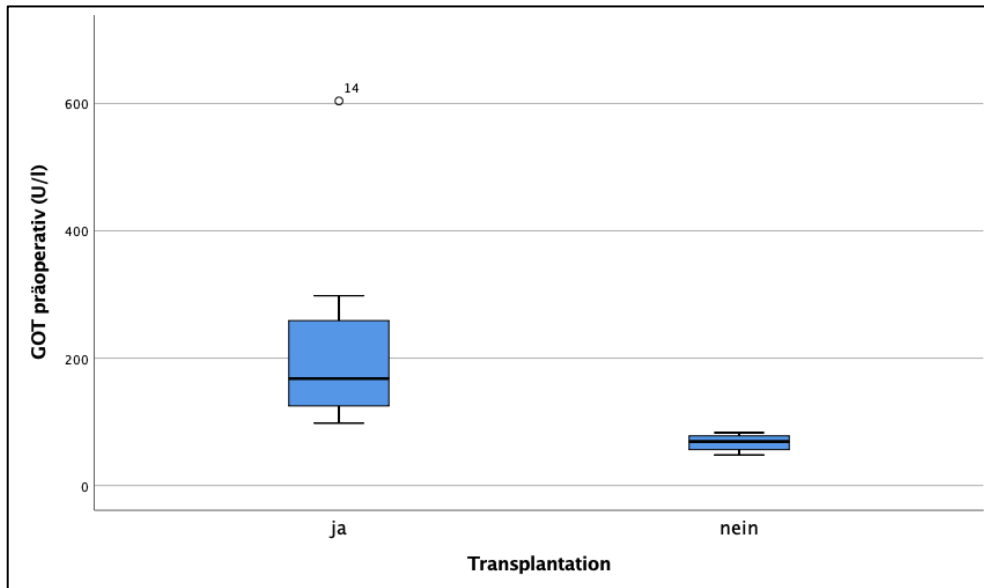


Abbildung 27: Boxplot über den Zusammenhang von GOT-Werten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und Transplantationsstatus

Ähnliche Ergebnisse ergaben sich auch für die Ausprägungen der Werte der GPT. Die Patienten, die im Verlauf der Studie lebertransplantiert wurden, hatten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation signifikant höhere GPT-Werte (M=117,0 U/l, R=53-401, SD=77,401, n=22) als diejenigen, die nicht transplantiert werden mussten (M=40,0 U/l, R=26-48, SD=9,469, n=4; exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-3,130$ ,  $p=0,000$ , siehe Abbildung 28). Es lässt sich analog zur GOT ein Cut-off-Wert zwischen 48 U/l und 53 U/l mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils 100% bilden.

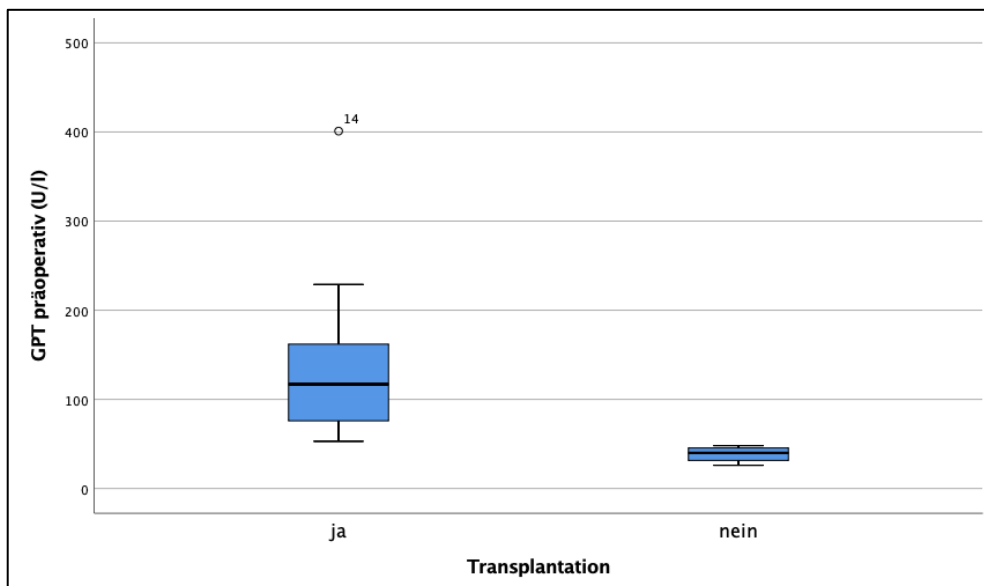


Abbildung 28: Boxplot über den Zusammenhang von GPT-Werten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und Transplantationsstatus

In den Kontrolluntersuchungen nach drei Monaten zeigte sich bei der GOT und der GPT der gleiche Zusammenhang wie unmittelbar vor der Hepatoportoenterostomie. Diejenigen Kinder, die im Studienverlauf ohne Lebertransplantation auskamen, hatten signifikant niedrigere Werte, als die Gruppe der bereits transplantierten Patienten (exakter Mann-Whitney-U-Test: GOT  $z=-2,601$ ,  $p=0,006$ ; GPT  $z=-2,174$ ,  $p=0,029$ ; siehe Abbildung 29 und Abbildung 30).

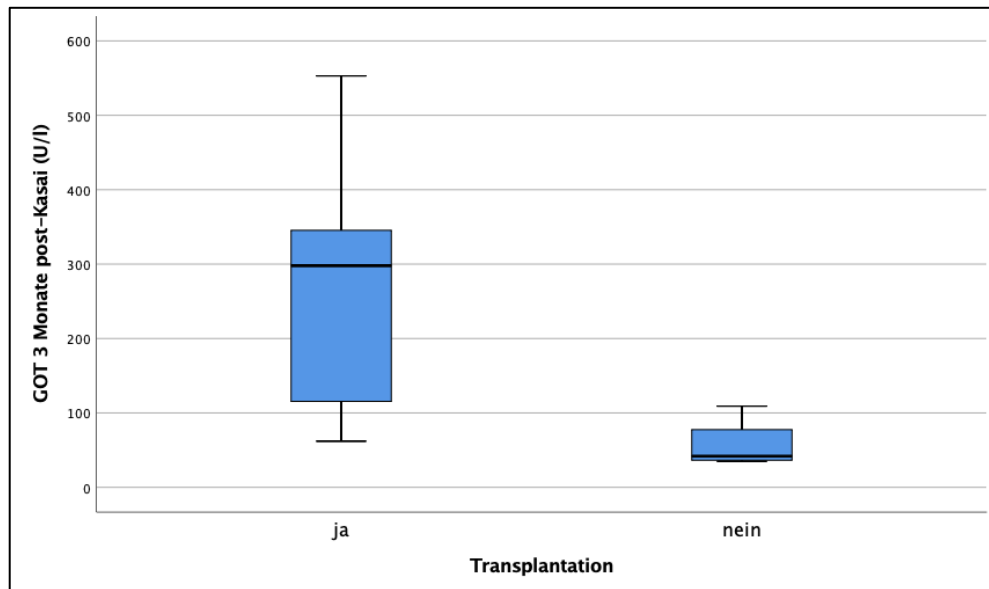


Abbildung 29: Boxplot über den Zusammenhang von GOT-Werten drei Monate nach Kasai-Operation und Transplantationsstatus

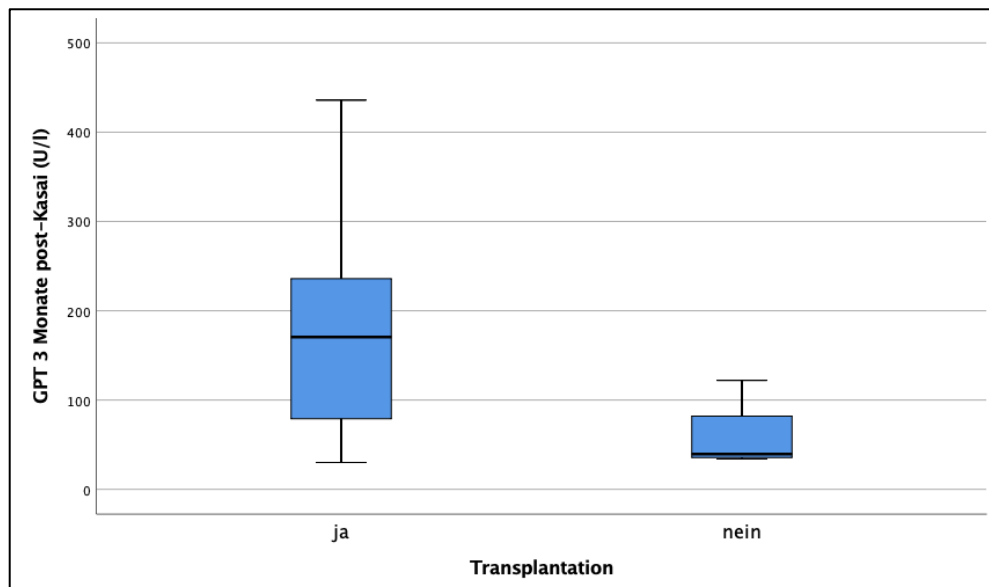


Abbildung 30: Boxplot über den Zusammenhang von GPT-Werten drei Monate nach Kasai-Operation und Transplantationsstatus

### 3.5.4 Zusammenhang zwischen GOT und GPT

Hohe Werte der GOT vor der Kasai-Operation gingen mit hohen Werten der GPT einher ( $r=0,895$ ,  $p=0,000$ ,  $n=26$ ). Der gleiche Zusammenhang trifft auf die Werte Lebertransplantation zu ( $r=0,765$ ,  $p=0,000$ ,  $n=18$ ).

Die in Abbildung 27 und Abbildung 28 erkennbaren Ausreißer vor der Kasai-Operation stammen dementsprechend vom selben Patienten. Er wurde im Verhältnis zum restlichen Studienkollektiv relativ spät im Alter von 84 Tagen operiert. Die GOT betrug 604 U/l, die GPT lag bei 401 U/l.

### 3.5.5 Verlauf des De-Ritis-Quotienten

Der De-Ritis-Quotient lag präoperativ bei den Patienten im Median bei 1,54 ( $R=1,04-2,45$ ,  $SD=0,354$ ,  $n=26$ ). Er stieg bis zum Zeitpunkt der Lebertransplantation auf einen medianen Wert von 1,83 ( $R=1,12-3,29$ ,  $SD=0,551$ ,  $n=18$ ).

Er korrelierte zu keinem der beiden Zeitpunkte mit dem Ishak-Score oder mit der CK-7 Ausprägung.

Vergleicht man die beiden Subgruppen, so zeigt sich, dass zum Zeitpunkt der Kasai-Operation alle Patienten einen gleichermaßen hohen Quotienten aufwiesen. In der Gruppe der nicht transplantierten Kinder betrug der Quotient zur Kontrolluntersuchung drei Monate postoperativ im Median unter eins (siehe Tabelle 9).

De-Ritis-Quotient	Kasai-Operation	Kontrolle nach 3 Monaten
<b>Transplantierte</b>	1,52 (1,04-2,45)	1,64 (0,68-2,22)
<b>Nicht Transplantierte</b>	1,89 (1,35-1,97)	0,96 (0,83-1,35)
<b>Mann-Whitney-U-Test</b>	$p>0,05$	$p<0,05$

Tabelle 9: De-Ritis-Quotient bei Kasai-Operation und drei Monate postoperativ (Median, (Range))



## 3.6 Auswertung der Bilirubinspiegel

### 3.6.1 Bilirubinspiegel zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

Das Gesamt-Bilirubin lag am Tag vor der Kasai-Operation im Median bei 7,60 mg/dl (R=3,9-12,3, SD=1,9748, n=25). Das Alter, in dem die Patienten nach Kasai operiert wurden, hatte keine Auswirkung auf die Höhe des Serumbilirubins. Der Wert des direkten Bilirubins lag im Median bei 6,20 mg/dl (R=3,5-8,7, SD=1,5568, n=23), was verglichen mit einem normalen prozentualen Anteil von circa 10% einem pathologisch hohen medianen Anteil von 84% am Gesamtbilirubinspiegel entspricht.

Bis zum Zeitpunkt der Lebertransplantation stieg das mediane Gesamt-Bilirubin auf einen Wert von 14,85 mg/dl (R=0,3-24,9, SD=6,7344, n=20) an. Es zeigte sich, dass diejenigen Patienten, die früher transplantiert wurden, unmittelbar vor der Transplantation ein höheres Gesamtbilirubin im Serum vorzuweisen hatten ( $r=-0,428$ ,  $p=0,053$ ,  $n=21$ ; siehe Abbildung 31).

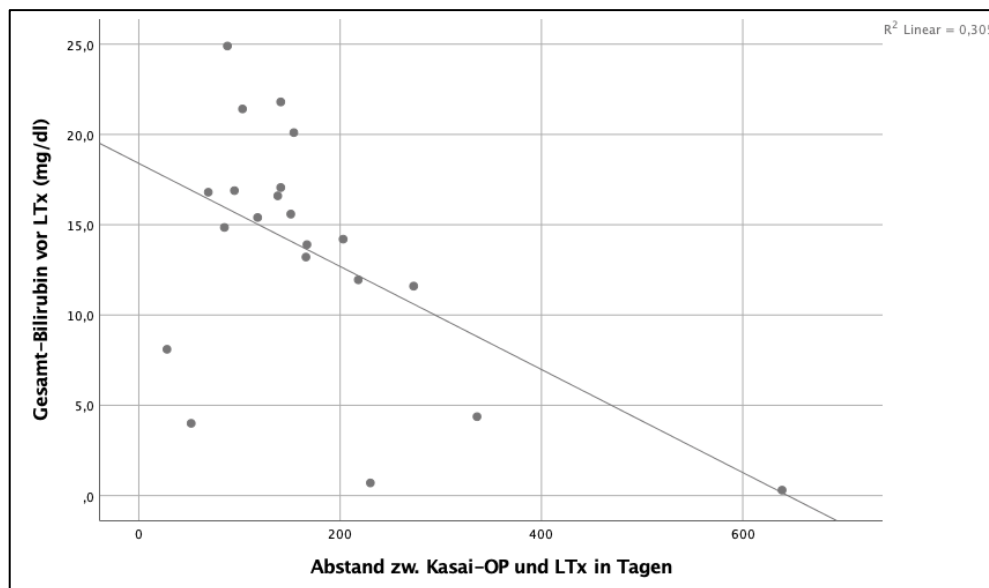


Abbildung 31: Zusammenhang zwischen Bilirubinspiegel vor Lebertransplantation und Abstand zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation

Bei 19 von 26 Patienten fiel im Laufe des stationären Aufenthalts nach der erfolgten Hepatoportoenterostomie der Gesamtbilirubinspiegel bis zur Entlassung auf ein niedrigeres Niveau als kurz vor der Operation. Ob das Bilirubin im postoperativen Verlauf

fällt oder steigt, hing nicht mit dem Alter zum Operationszeitpunkt zusammen. Das Überleben mit der eigenen Leber wurde von diesem kurzfristigen postoperativen Anstieg oder Abfall des Bilirubins nicht beeinflusst. Es zeigt sich bei beiden Gruppen kein Unterschied im Abstand zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation.

Die Patienten, die mit einem höheren Bilirubin-Wert in die Kasai-Operation gegangen waren, zeigten postoperativ einen signifikant höheren Abfall des Bilirubins als die Patienten, die zum Operations-Zeitpunkt einen eher niedrigen Bilirubin-Wert hatten ( $r=0,582$ ,  $p=0,002$ ,  $n=25$ ; siehe Abbildung 32).

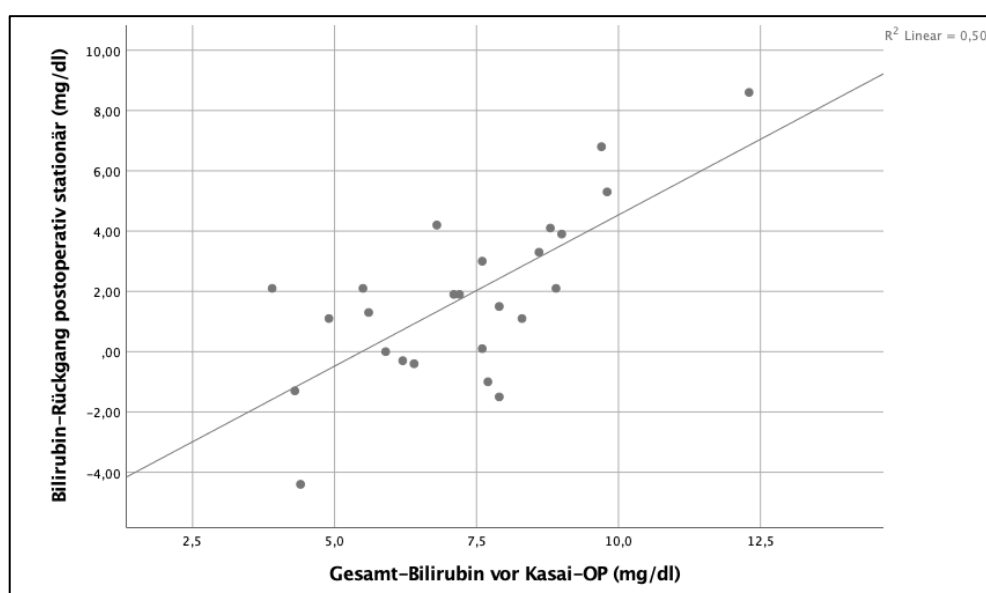


Abbildung 32: Zusammenhang zwischen Bilirubinspiegel vor Kasai-Operation und postoperativem Bilirubin-Abfall

### 3.6.2 Bilirubinspiegel drei Monate postoperativ

Drei Monate nach der erfolgten Kasai-Operation stiegen die Bilirubinwerte bei den untersuchten Patienten im Median um 1,4 mg/dl an ( $R=-12,47-12,10$ ,  $SD=7,4459$ ,  $n=19$ ). Hier zeigt sich keine Korrelation mit dem Alter bei Hepatoportoenterostomie, allerdings besteht ein Zusammenhang mit dem kurzfristigen postoperativen Abfall des Bilirubins. Diejenigen Patienten, die im stationären Verlauf nach der Kasai-Operation einen stärkeren Rückgang des Bilirubinspiegels aufwiesen, hatten auch drei Monate später noch einen signifikanten Rückgang der Werte zu verzeichnen ( $r=0,484$ ,  $p=0,036$ ,  $n=19$ ).

### 3.6.2 Vergleich der Bilirubinspiegel transplantiertes und nicht transplantiertes Patienten

Was die Bilirubin-Werte vor der Kasai-Operation betrifft, zeigt sich kein Unterschied zwischen den vier Kindern, die bis heute mit ihrer eigenen Leber überleben, und den Patienten, die bereits transplantiert wurden.

Ebenso konnte bei der Untersuchung des postoperativen Abfalls des Bilirubinspiegels im stationären Verlauf keine signifikant unterschiedliche Tendenz der Mediane der beiden Gruppen festgestellt werden. Der Wert sank bei den transplantierten Kindern im Median um 1,3 mg/dl (SD=2,627, n=21) ab, bei den nicht transplantierten betrug der Abfall median 2,0 mg/dl (SD=3,393, n=4).

Es ist zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und im anschließenden stationären Aufenthalt anhand der Bilirubinwerte nicht möglich, eine prognostische Aussage zu tätigen.

Im Verlauf bis zur Kontrolluntersuchung drei Monate nach erfolgter Kasai-Operation sank das Bilirubin im Vergleich zum Wert vor dem Eingriff nur bei der Gruppe der nicht transplantierten Kinder (M=7,198 mg/dl, SD=3,5241; siehe Tabelle 10 und Abbildung 33). Sie hatten ebenfalls die niedrigeren absoluten Bilirubinwerte, als die im Verlauf transplantierten Kinder (exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-2,835$ ,  $p=0,002$ ).

Im Gegensatz dazu nahm der Bilirubinspiegel bei den Patienten, die bereits im Studienverlauf lebertransplantiert wurden, leicht zu (M=-2,677 mg/dl, SD=6,8283, siehe Tabelle 10 und Abbildung 34). Somit ergibt sich anders als beim kurzfristigen postoperativen stationären Verlauf des Bilirubins ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen (exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-2,200$ ,  $p=0,027$ ).

Das Bilirubin lässt drei Monate postoperativ Rückschlüsse zu, welche Patienten lebertransplantiert werden müssen. Je höher der Rückgang des Bilirubins ist, desto unwahrscheinlicher ist die Notwendigkeit einer zeitnahen Transplantation.

Zusätzlich bleibt festzuhalten, dass ein starker Abfall des Bilirubins unmittelbar postoperativ zwar nicht mit dem Abstand bis zur Lebertransplantation korreliert werden kann, er weist allerdings auf einen ebenso starken Abfall in der Kontrolle nach drei Monaten hin, so dass zumindest indirekt eine prognostische Aussagekraft besteht.

Bilirubin-Abfall in mg/dl	Stationär postoperativ	Nach 3 Monaten
<b>Transplantierte</b>	1,6 (-4,4-6,8)	-2,7 (-12,5-7,6)
<b>Nicht Transplantierte</b>	3,5 (1,5-8,6)	7,2 (2,8-12,2)
<b>Mann-Whitney-U-Test</b>	p>0,05	p<0,05

Tabelle 10: Verlauf des Bilirubins postoperativ, negative Werte stehen für einen Anstieg des Bilirubins

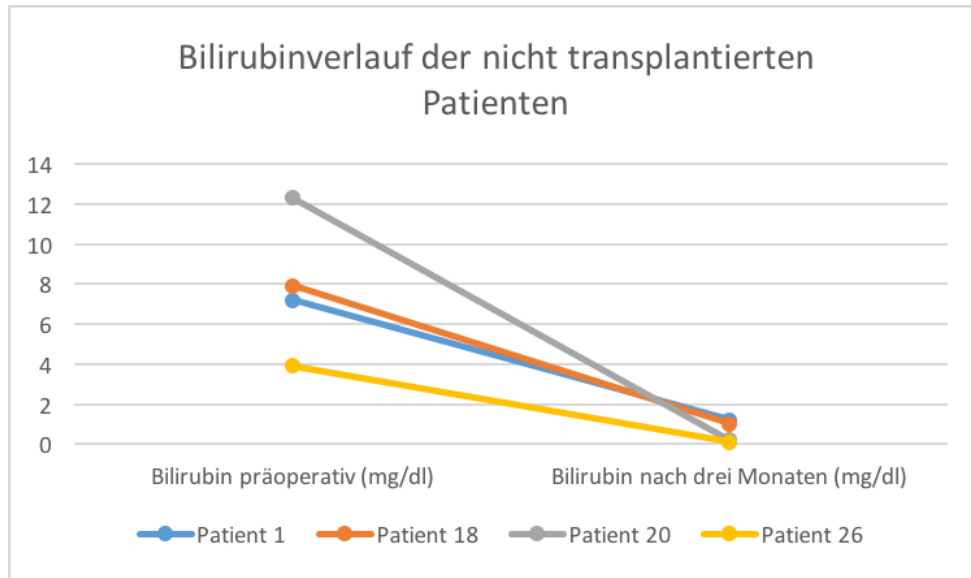


Abbildung 33: Bilirubinverlauf der nicht transplantierten Patienten

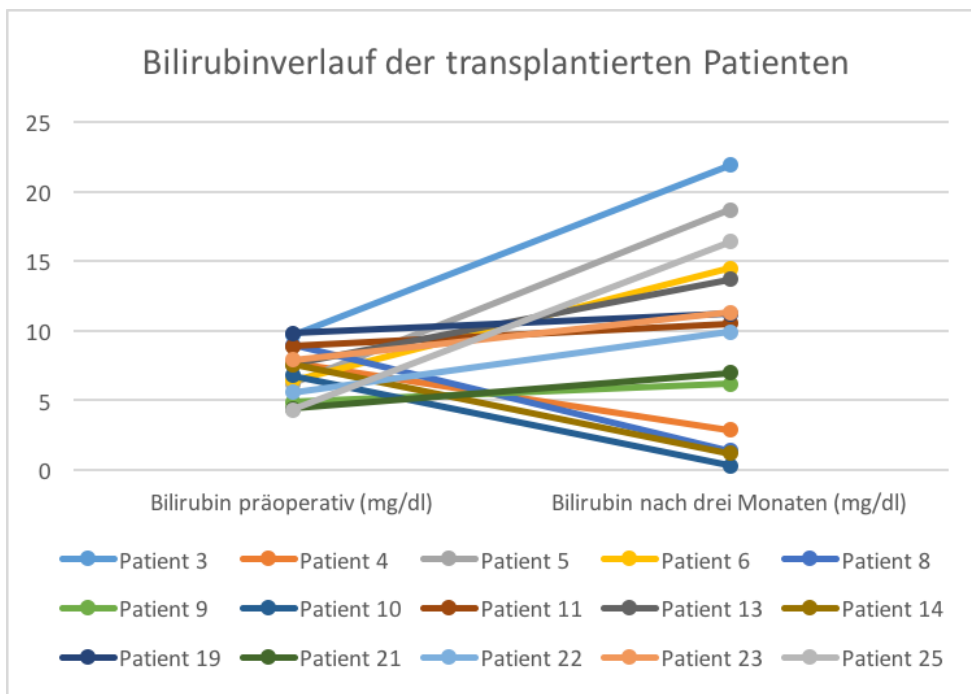


Abbildung 34: Bilirubinverlauf der transplantierten Patienten

## 3.7 Auswertung der Alkalischen Phosphatase

### 3.7.1 Werte der Alkalischen Phosphatase bei Kasai-Operation

Zum Zeitpunkt der Kasai-Operation betrug der Wert der alkalischen Phosphatase im Serum zwischen 364 U/l und 966 U/l (M=523,50, SD=195,686, n=14). Die Höhe war hochsignifikant abhängig vom Alter der Kinder, je später die Operation stattfand, desto erhöhter war die alkalische Phosphatase im Blut ( $r=0,807$ ,  $p=0,000$ ,  $n=14$ , siehe Abbildung 35).

Eine Aussage bezüglich der Notwendigkeit einer Lebertransplantation und in welchem Zeitraum diese stattfinden wird, lässt die Bestimmung der Alkalischen Phosphatase nicht zu.

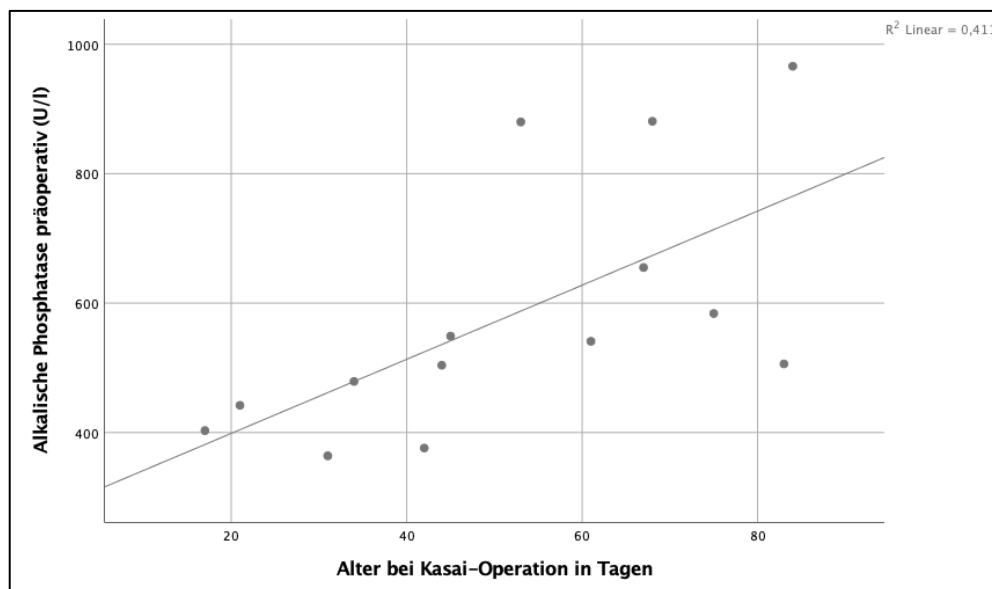


Abbildung 35: Zusammenhang zwischen Alter bei Kasai-Operation und den Werten der alk. Phosphatase

### 3.7.2 Werte der Alkalischen Phosphatase drei Monate postoperativ

Bei den Kontrolluntersuchungen drei Monate postoperativ lag die Alkalische Phosphatase im Median bei 607 U/l (R=304-1080, SD=217,670, n=19).

Auch zu diesem Zeitpunkt lässt sich anhand dieser Werte keine Vorhersage treffen, ob

und wann eine Lebertransplantation nötig wird. Die Subgruppen der transplantierten und nicht transplantierten Patienten zeigen keine Unterschiede in den Werten der Alkalischen Phosphatase.

### 3.8 Analyse der histologischen Untersuchungen

#### 3.8.1 Ishak-Score

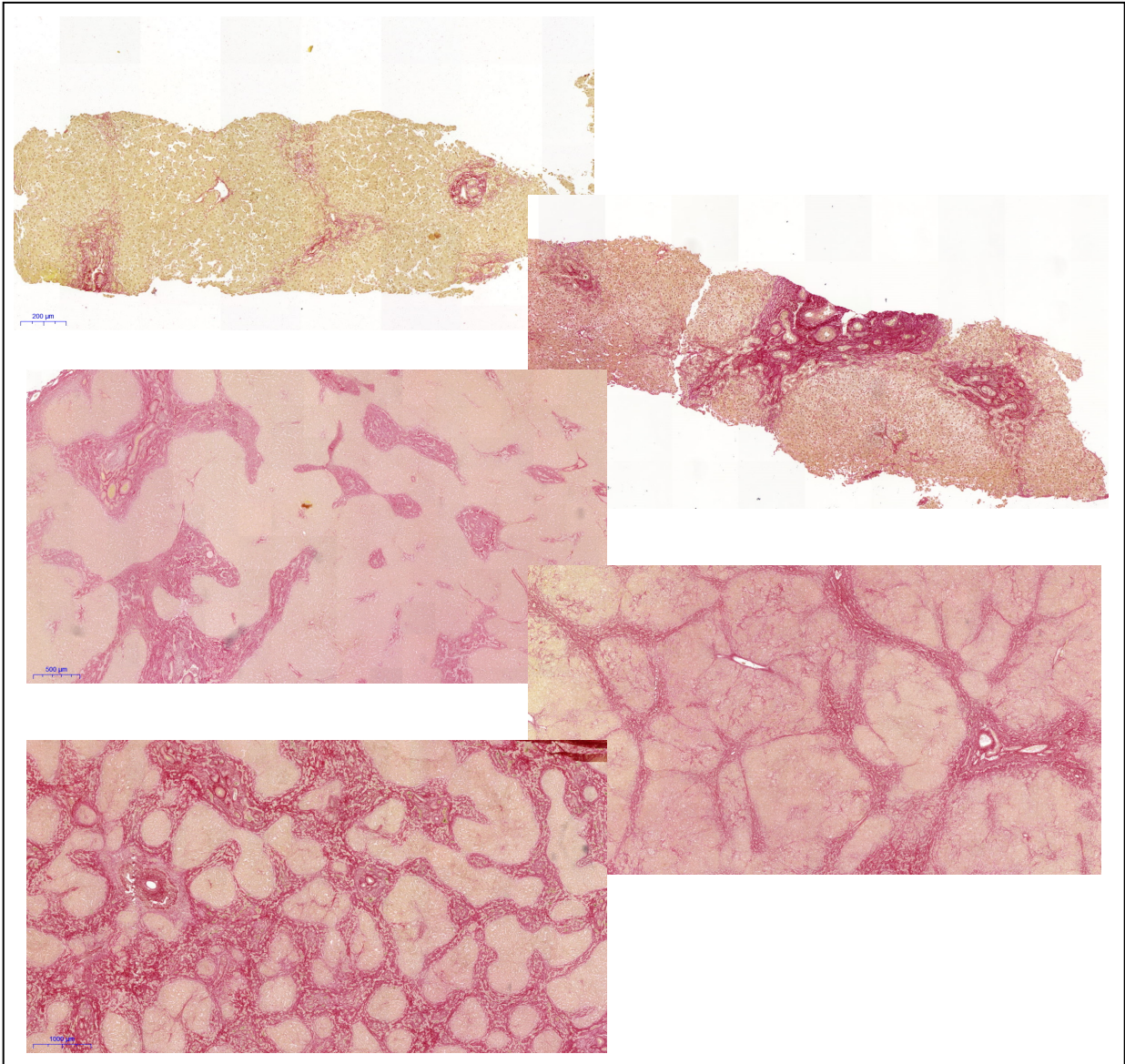


Abbildung 36: von oben nach unten Ishak-Score 2 bis 6, von Ishak-Score 1 kein geeignetes Bildmaterial vorhanden

Es konnte bei 25 Patienten eine Färbung mit Pikro-Siriusrot zur Erhebung des Ishak-Scores zum Zeitpunkt der Kasai-Operation erfolgen. Bei einer Patientin wurden die histologischen Untersuchungen des intraoperativ entnommenen Gewebes von einem niedergelassenen Pathologen durchgeführt und es konnte kein asserviertes Gewebe mehr zur nachträglichen Färbung angefordert werden.

Bei den Präparaten handelte es sich um entnommene Leberstanzbiopsien. Es wurde jeweils das größte zusammenhängende Gewebestück mit möglichst erhaltenen Portalfeldern zur Färbung herangezogen.

Der niedrigste erhobene Score lag bei einem Wert von eins, der höchste bei einem Wert von sechs (M=3,00, SD=1,085). Eine völlig unauffällige Leber mit einem Score von null lag nicht vor (siehe Abbildung 37).

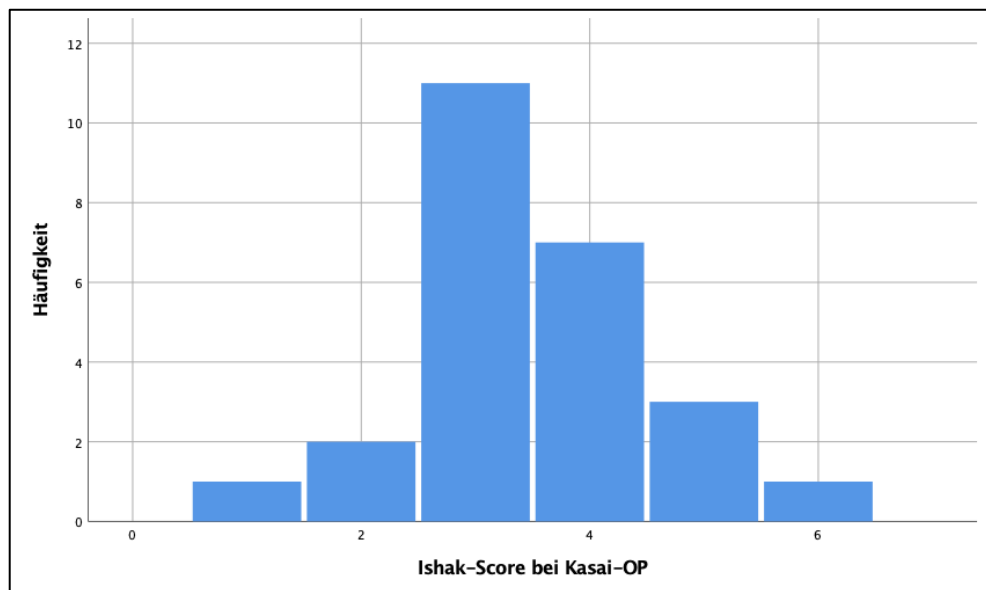


Abbildung 37: Ishak-Score zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Höhe des Ishak-Scores und dem Alter der Patienten bei Kasai-Operation. Ebenso konnte der zu diesem Zeitpunkt erhobene Score nicht mit der Dauer des Überlebens ohne Lebertransplantation korreliert werden. Der Abstand bis zur Lebertransplantation und das Ausmaß des Bilirubin-Abfalls bis zur Kontrolle nach drei Monaten wurden durch ihn nicht beeinflusst.

Weder die Werte der Leberenzyme GOT, GPT und  $\gamma$ -GT, noch die des Bilirubins vor der Operation nach Kasai, zeigten einen Zusammenhang mit dem Ishak-Score der

intraoperativ entnommenen Gewebeprobe.

Von 21 der 22 bereits lebertransplantierten Studienpatienten konnte eine Erhebung des Ishak-Scores der explantierten Lebern erfolgen. Ein Patient wurde nicht im Uniklinikum Regensburg operiert und es konnte kein Gewebe mehr angefordert werden.

Der Ishak-Score lag bei allen 21 Patienten bei einem Wert von mindestens vier, 14 von ihnen erreichten den höchsten Score von sechs ( $M=6,00$ ,  $SD=0,590$ ; siehe Abbildung 38).

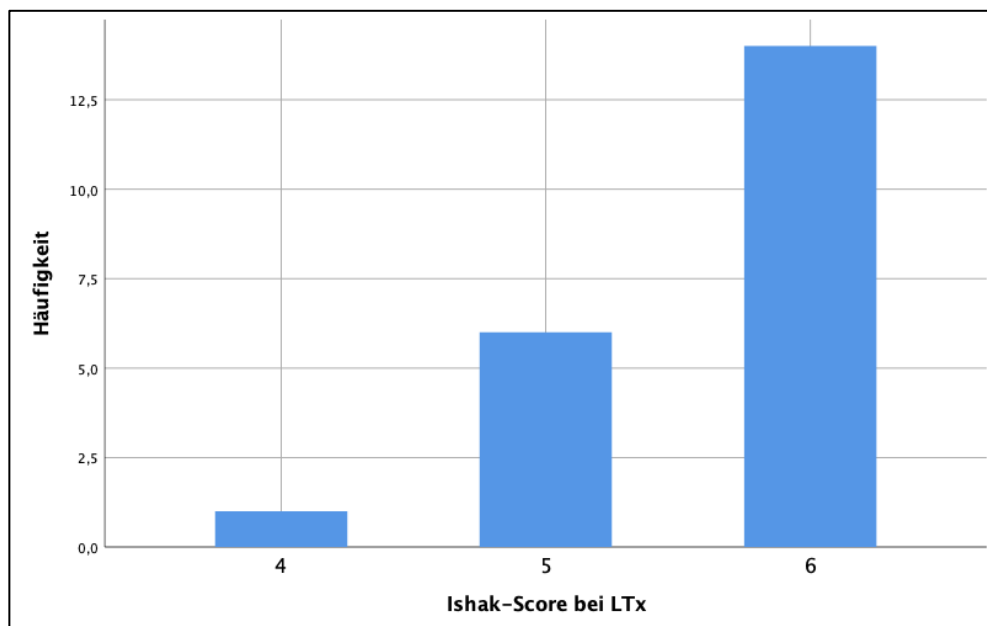


Abbildung 38: Ishak-Score zum Zeitpunkt der Lebertransplantation

Ähnlich wie bei den Ishak-Scores zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ergab sich auch hier kein Zusammenhang zu erhobenen Laborparametern, zum Abstand zwischen Kasai-Operation und Transplantation oder zum Alter der Kinder zum Zeitpunkt der Lebertransplantation.



### 3.8.2 Auswertung der Immunhistochemie CK-7

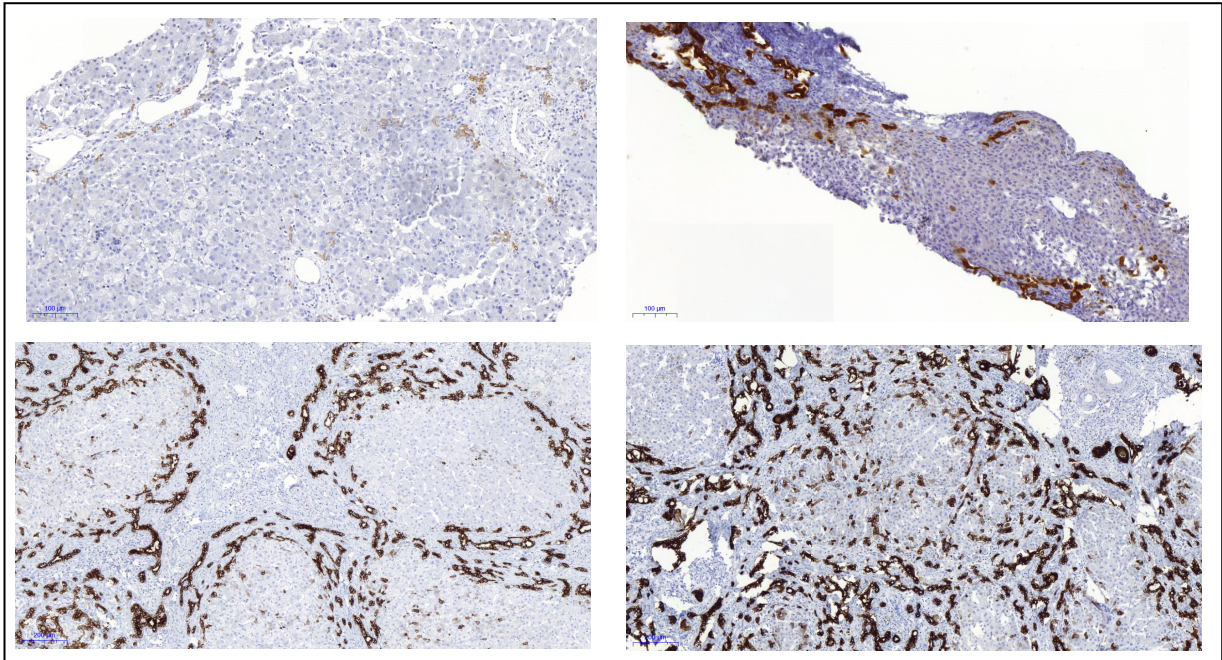


Abbildung 39: links oben CK 7 Score 0, rechts oben CK 7 Score 1, links unten CK 7 Score 2, rechts unten CK 7 Score 3

Die bei 25 Patienten erhobenen Werte zur Expressierung des CK-7 als Marker des Ausmaßes der pathologischen Gallengangproliferation zum Zeitpunkt der Kasai-Operation lagen auf einer Skala mit einem Höchstwert von vier Punkten (siehe Abbildung 39) zwischen null und zwei ( $M=1,00$ ,  $SD=0,678$ ; siehe Abbildung 40). Es ergab sich kein Zusammenhang zum Alter der Kinder zum Operationszeitpunkt oder dem transplantatfreien Überleben.

Patienten mit einem hohen präoperativen Bilirubinspiegel hatten tendenziell höhere CK-7 Werte in den entnommenen Leberstanzbiopsien ( $r=0,401$ ,  $p=0,051$ ), ansonsten konnte kein Zusammenhang zu Laborwerten oder dem Zeitpunkt der Operation nach Kasai und dem der Lebertransplantation hergestellt werden.

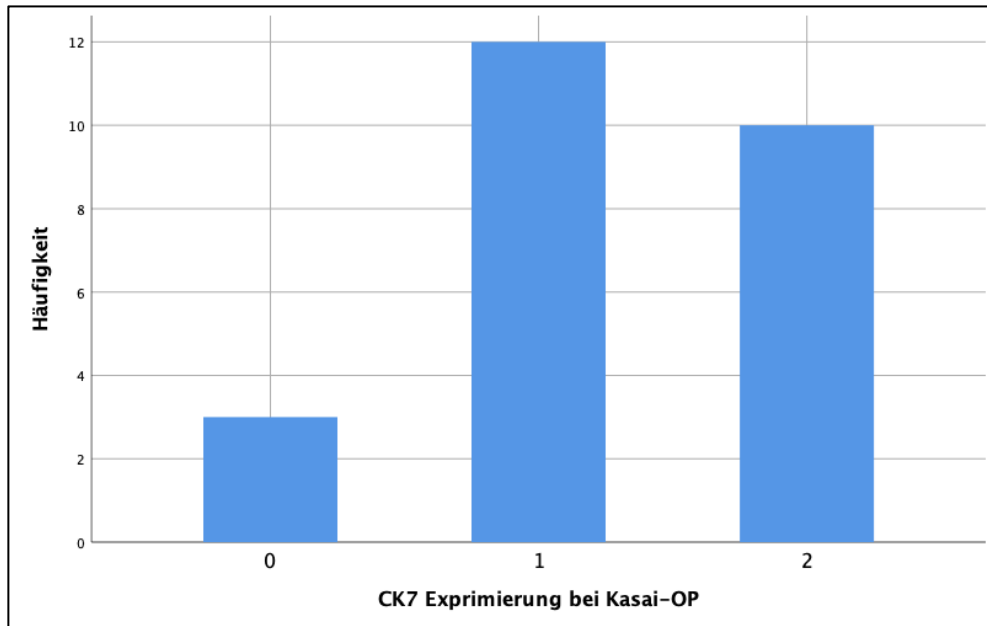


Abbildung 40: CK-7 Werte zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

Bis zur Lebertransplantation erhöhten sich die erhobenen Werte für das CK-7 auf zwei bis drei ( $M=3,00$ ,  $SD=0,512$ ; siehe Abbildung 41).

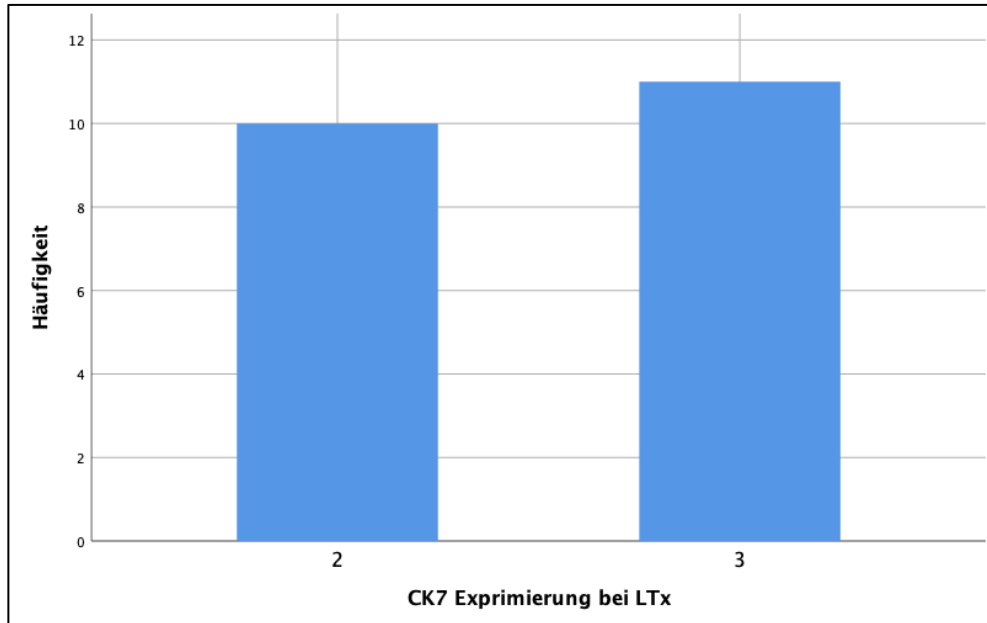


Abbildung 41: CK-7 Werte zum Zeitpunkt der Lebertransplantation

Je stärker das CK-7 in den untersuchten Schnitten exprimiert wurde, desto signifikant höher war auch der Bilirubinspiegel zum Zeitpunkt der Transplantation ( $r=0,441$ ,  $p=0,045$ ; siehe Abbildung 42). Zu anderen Laborparametern oder dem Zeitpunkt der Operation und

ihrem Abstand zur vorangegangenen Kasai-Operation ergab sich kein Zusammenhang. Zwischen den Ausprägungen des Ishak-Scores und den Werten des CK-7 ergab sich zu keinem der beiden Untersuchungszeitpunkte eine Korrelation.

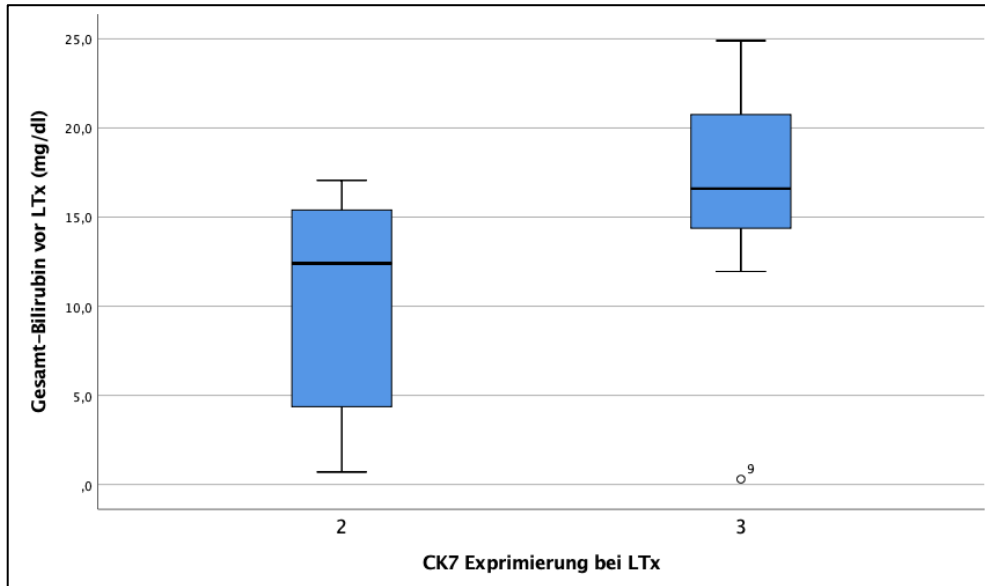


Abbildung 42: Boxplot über den Zusammenhang zwischen CK-7 und Bilirubin bei Lebertransplantation

### 3.8.3 Vorkommen von Riesenzellen

Der Score zur Beurteilung der Riesenzellen lag zum Zeitpunkt der Kasai-Operation bei einem Mittelwert von 0,88 (R=0-2, SD=0,864, n=26) und stieg bis zur Lebertransplantation auf einen Wert von 0,95 (R=0-2, SD=0,740, n=21), was keinem statistisch signifikanten Anstieg entspricht (siehe Abbildung 43).

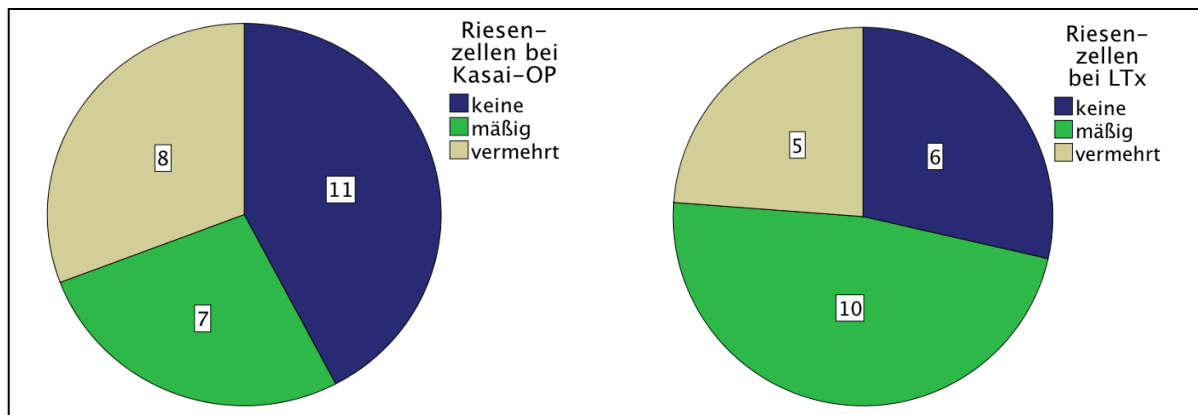


Abbildung 43: Vorkommen von Riesenzellen bei Kasai-Operation (links) und Lebertransplantation (rechts)

Es zeigte sich, dass Patienten mit einem höheren Wert der Riesenzellen zum Zeitpunkt der Kasai-Operation auch zum Zeitpunkt der Transplantation einen höheren Score aufwiesen ( $r=0,718$ ,  $p=0,000$ ,  $n=21$ ).

Bei der Analyse einer Korrelation mit den Leberenzymen GOT, GPT und  $\gamma$ -GT stellte sich heraus, dass ein Zusammenhang zwischen den Werten der GOT und GPT vor der Kasai-Operation und dem Vorkommen von Riesenzellen in den intraoperativ entnommenen Leberstanzbiopsien bestand. Je höher der Laborwert lag, desto höher lag der entsprechende Wert auf der Skala zur histologischen Beurteilung der Riesenzellen. Es bestand ein schwacher, nicht signifikanter Effekt bei der GOT ( $r=0,295$ ,  $p=0,143$ ,  $n=26$ ) und ein signifikanter Effekt bei der Auswertung der GPT ( $r=0,401$ ,  $p=0,043$ ,  $n=26$ , siehe Abbildung 44).

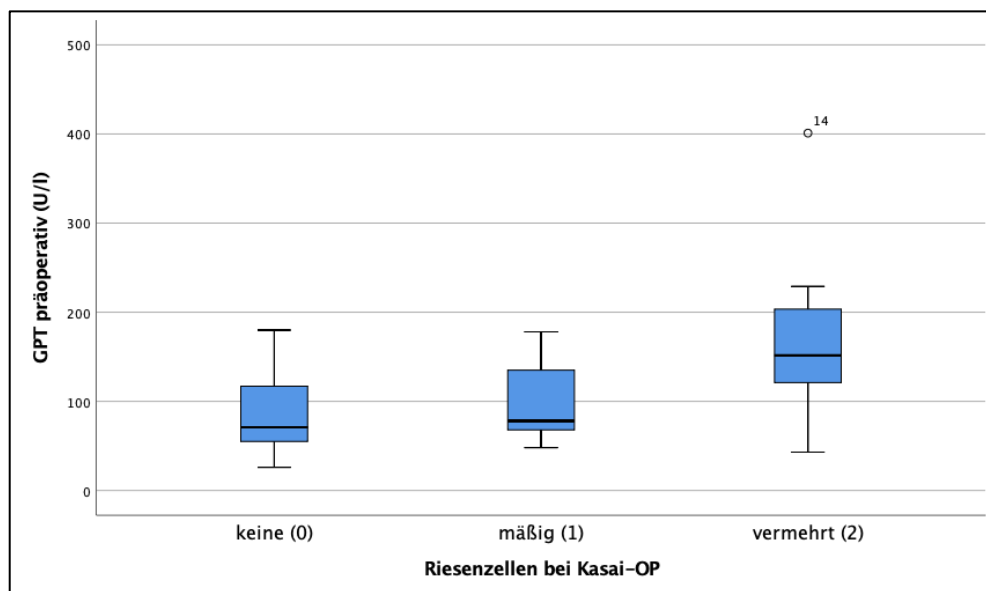


Abbildung 44: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Riesenzellen und GPT-Werten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

Der präoperativ erhobene Wert der GPT ergab auch einen prognostischen Hinweis auf die Ausprägung der Riesenzellen zum Zeitpunkt einer Lebertransplantation ( $r=0,492$ ,  $p=0,042$ ,  $n=21$ , siehe Abbildung 45).

Mit anderen Laborparametern, insbesondere den Bilirubinspiegeln ergab sich keinerlei statistischer Zusammenhang.

Auch zwischen dem Alter der Kinder bei der erfolgten Kasai-Operation, dem Abstand zu ihrer Lebertransplantation oder dem Alter bei Transplantation und den Werten auf der

Skala der Riesenzellen ließ sich kein Zusammenhang herstellen. Weder die Ausprägung der Riesenzellen in den bei der Kasai-Operation entnommenen Biopsien noch die zum Zeitpunkt der Lebertransplantation korrelierte mit den zeitlichen Abständen.

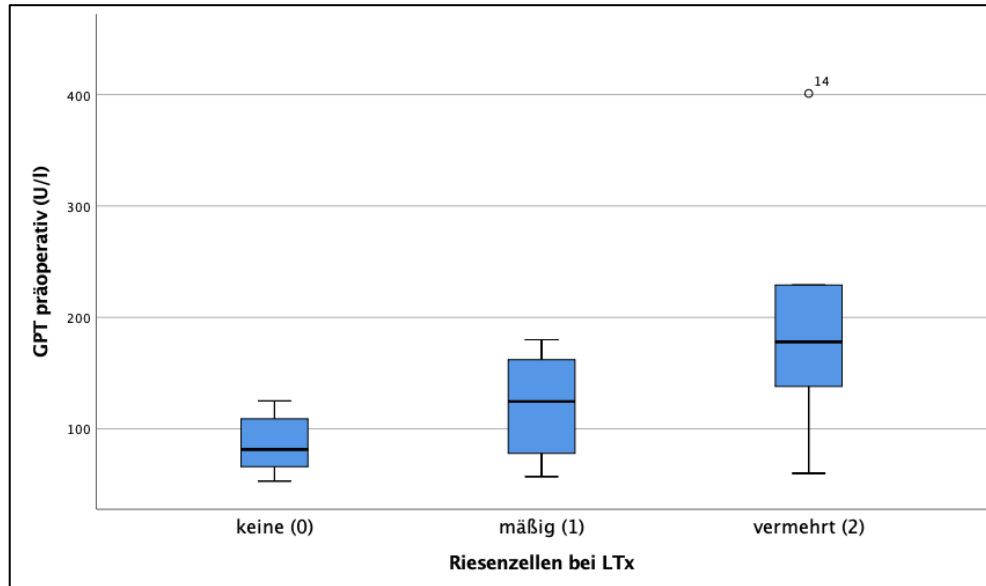


Abbildung 45: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Riesenzellen und GPT-Werten bei Lebertransplantation

### 3.8.4 Rosettenformationen der Hepatozyten

Auf der Skala zur Einteilung des Vorkommens von Rosettenformationen in den einzelnen Schnitten lagen die Werte zum Zeitpunkt der Kasai-Operation zwischen null und zwei, der Mittelwert lag bei einem Wert von 0,88 (R=0-2, SD=0,588, n=26). Er erhöhte sich bis zur Lebertransplantation durch den Wegfall von unauffälligen Proben mit einem Score von null auf einen Wert von 1,19 (R=1-2, SD=0,402, n=21), was allerdings keinen signifikanten Unterschied ausmachte.

Bei Betrachtung der Ausprägung der Rosettenformationen im Zusammenhang mit den Daten zum Alter der Kinder bei Kasai-Operation und dem Abstand zur Lebertransplantation ergab sich keinerlei Zusammenhang.

Analysierte man die Beziehung zwischen Rosettenformationen und den Leberenzymen, so ergab sich ein Zusammenhang zwischen der vor Kasai erhobenen GOT und dem Vorkommen der Rosetten in den Lebern. Ein hoher Wert der GOT deutete auf einen

höheren Score auf der histologischen Skala in den Leberstanzbiopsien hin ( $r=0,423$ ,  $p=0,031$ ,  $n=26$ ; siehe Abbildung 46). Im Gegensatz dazu hatten die Kinder mit hohen GOT-Werten vor Kasai-Operation einen eher niedrigeren Score der Rosettenformationen in den histologischen Proben zum Zeitpunkt ihrer Transplantation ( $r=-0,441$ ,  $p=0,046$ ,  $n=21$ ; siehe Abbildung 47).

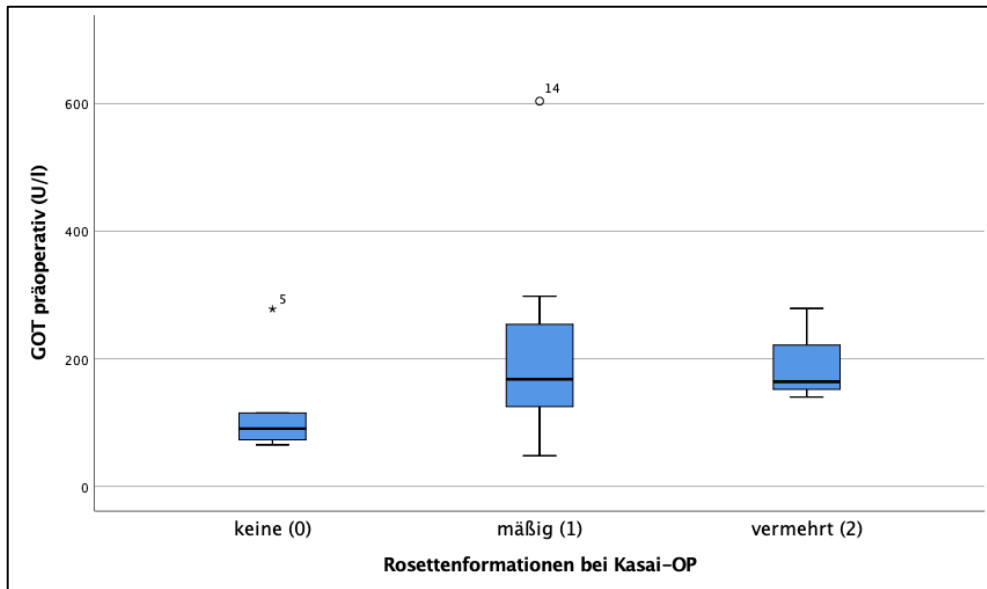


Abbildung 46: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Rosettenformationen und GOT zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

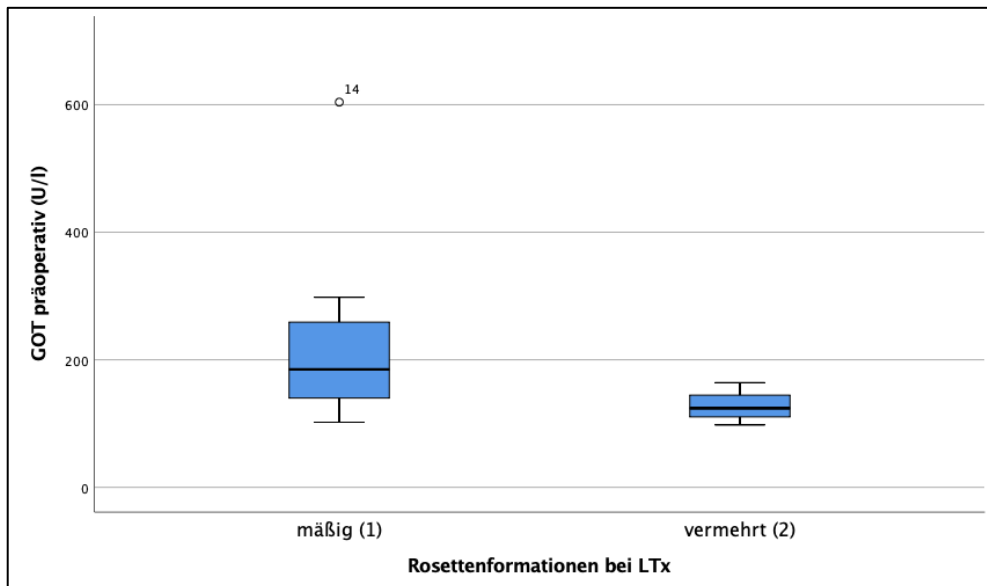


Abbildung 47: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Rosettenformationen und GOT-Werten bei Lebertransplantation

Des Weiteren bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen den Bilirubin-Werten der Patienten vor Kasai-Operation und dem Vorkommen von Rosetten in den Leberstanzbiopsien ( $r=0,488$ ,  $p=0,013$ ,  $n=25$ , siehe Abbildung 48).

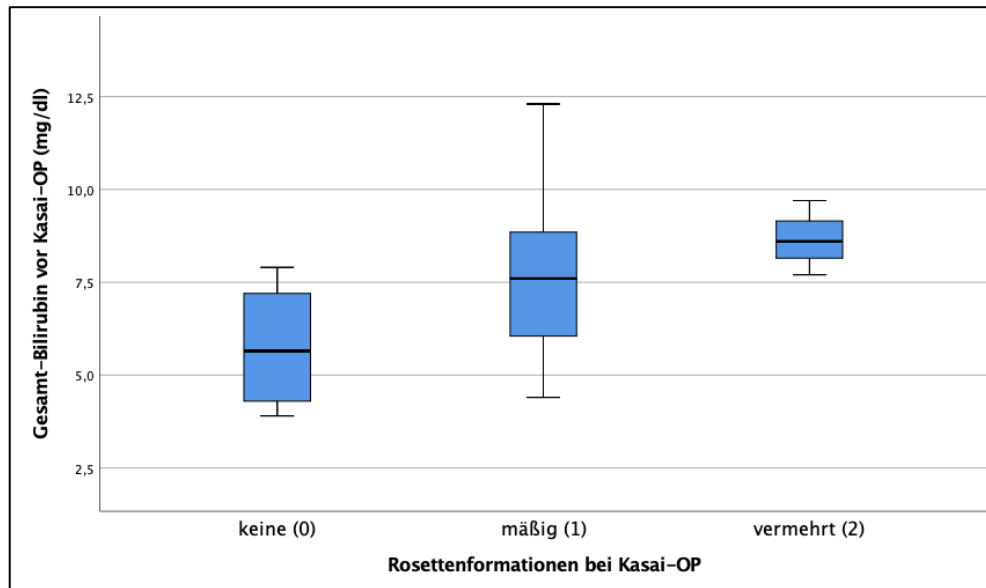


Abbildung 48: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Rosettenformationen und Bilirubinspiegel zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

### 3.8.5 Vorkommen von Bile Plugs in den Portalfeldern

Bei den meisten Patienten waren bei der Kasai-Operation keinerlei Bile Plugs in ihren Leberstanzbiopsien nachzuweisen, das Ausmaß der Bile Plugs in den histologischen Schnitten lag zu diesem Zeitpunkt im Mittel bei 0,81 Punkten auf einer Skala von null bis drei ( $R=0-2$ ,  $SD=0,549$ ,  $n=26$ ; siehe Abbildung 49).

Es stieg bis zur Lebertransplantation auf einen Mittelwert von 1,81 ( $R=0-3$ ,  $SD=0,981$ ,  $n=21$ ) und es waren bei 23% der Patienten ubiquitär Bile Plugs vorhanden. Es handelt sich hierbei um einen signifikanten Anstieg (exakter Wilcoxon-Test:  $z=-3,612$ ,  $p=0,000$ ).

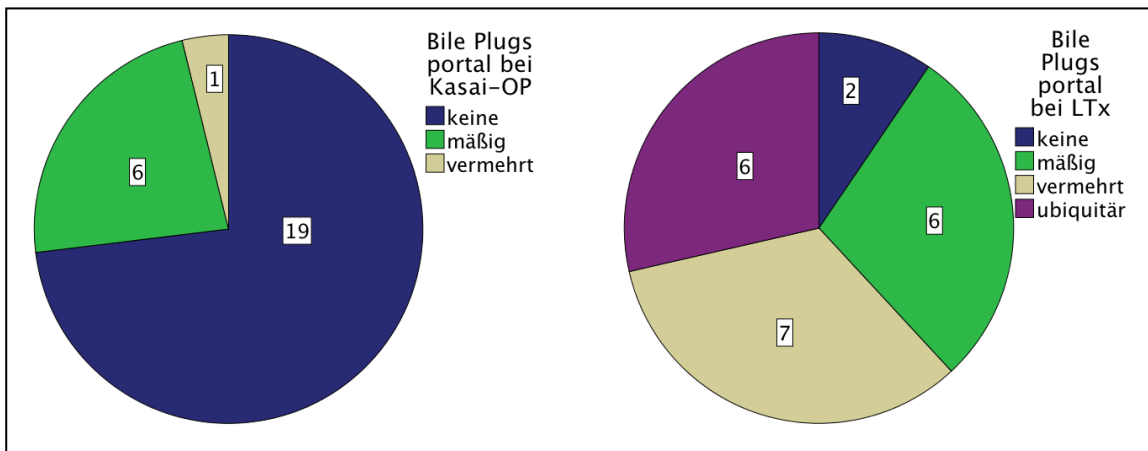


Abbildung 49: Vorkommen von Bile Plugs zum Zeitpunkt der Kasai-Operation (links) und bei Lebertransplantation (rechts)

Bei der statistischen Auswertung ergab sich kein Zusammenhang der Werte zum Alter der Kinder bei Kasai-OP oder dem Alter bei Lebertransplantation.

Analysierte man jedoch die Korrelation mit den Laborwerten, die bei den Kindern erhoben wurden, so hingen die präoperativen Werte der GOT und GPT zum Zeitpunkt der Kasai-Operation signifikant mit dem Vorkommen von Bile Plugs in den explantierten Lebern zusammen. Eine niedrige GOT deutete auf ein erhöhtes Vorkommen von Bile Plugs in den Portalfeldern hin ( $r=-0,500$ ,  $p=0,021$ ,  $n=21$ ), genau wie ein niedriger GPT-Wert ( $r=-0,482$ ,  $p=0,027$ ,  $n=21$ , siehe Abbildung 50).

Des Weiteren zeigte sich, dass Patienten mit hohen Bilirubinspiegeln zum Transplantationszeitpunkt einen hohen Wert für das Vorhandensein von Bile Plugs aufwiesen ( $r=0,464$ ,  $p=0,034$ ,  $n=21$ , siehe Abbildung 51).



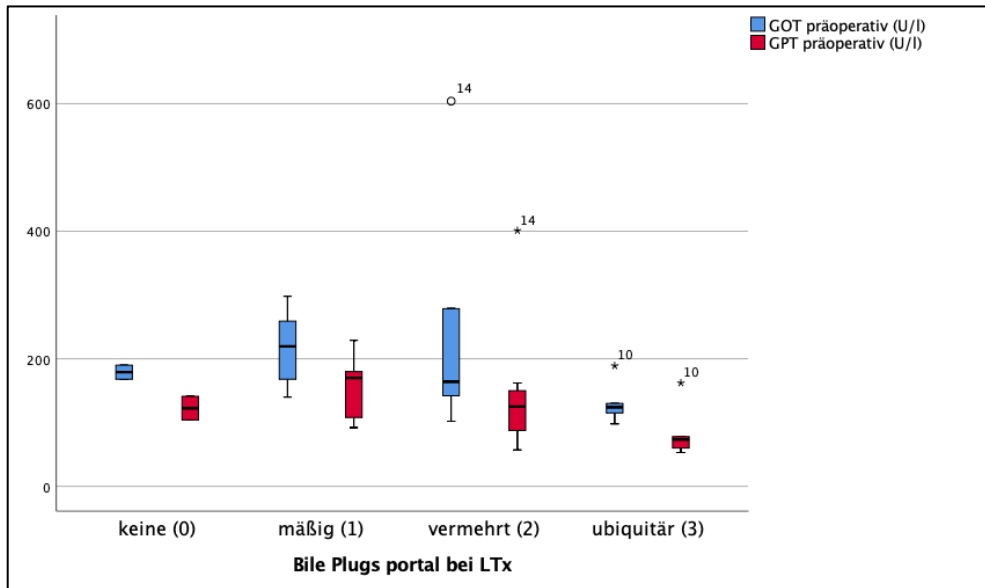


Abbildung 50: Boxplot über den Zusammenhang von GOT (blau) und GPT (rot) und dem Vorkommen von Bile Plugs bei Lebertransplantation

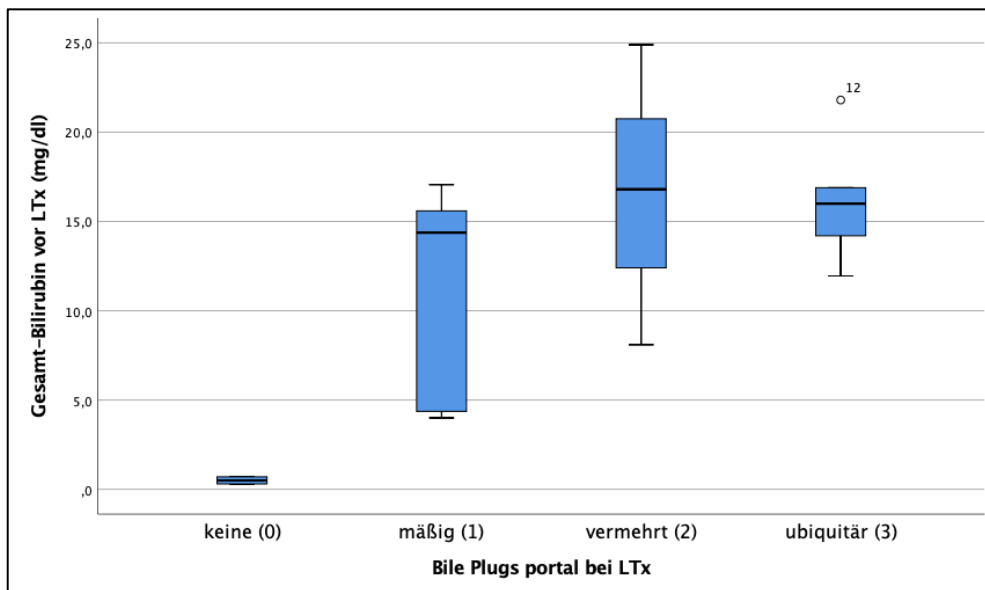


Abbildung 51: Boxplot über den Zusammenhang von Bile Plugs und Bilirubinspiegeln bei Lebertransplantation

### 3.8.6 Morphologie der Hepatozyten

Die Werte zur Beurteilung der Hepatozyten-Morphologie lagen zum Zeitpunkt der Kasai-Operation bei Werten zwischen 0 und 3 (M=1,23, SD=0,815, n=26) und stiegen bis zur Lebertransplantation signifikant auf einen Mittelwert von 2,19 (R=0-3, SD=1,078, n=21;

exakter Wilcoxon-Test:  $z=-2,667$ ,  $p=0,007$ ).

Es zeigte sich, dass zwischen dem Zustand der Hepatozyten bei Transplantation und dem Abstand zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation ein negativer Zusammenhang bestand ( $r=-0,436$ ,  $p=0,048$ ,  $n=21$ ; siehe Abbildung 52). Unauffällige, noch nicht sichtbar veränderte Hepatozyten gingen mit einem längeren Überleben mit der eigenen Leber einher.

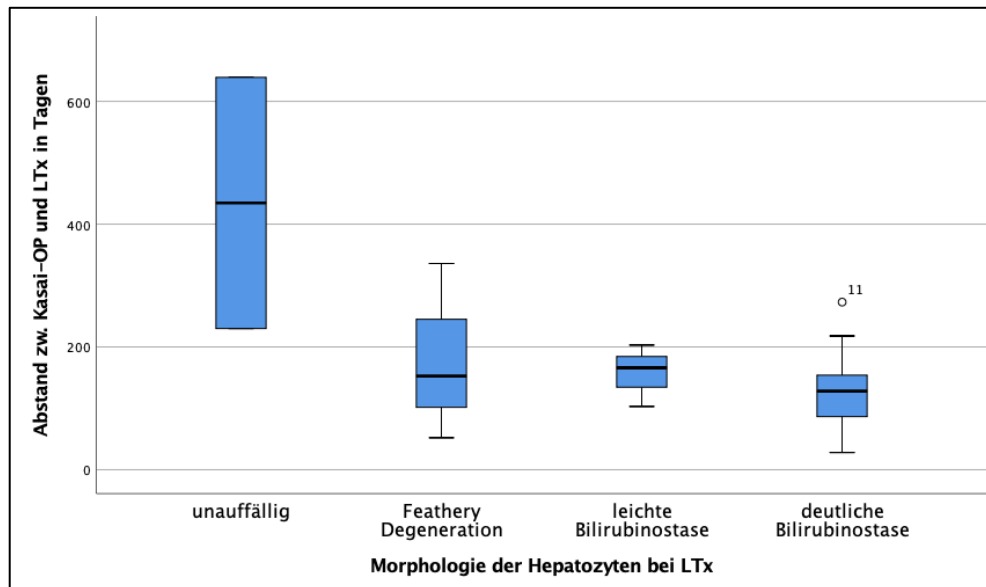


Abbildung 52: Morphologie der Hepatozyten im Zusammenhang mit dem Abstand zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation

Ein ähnlicher Zusammenhang existierte zwischen der Morphologie der Hepatozyten bei Lebertransplantation und dem Gesamtbilirubinspiegel zu diesem Zeitpunkt. Je höher der Bilirubinspiegel lag, desto ausgeprägter war die Schädigung der Hepatozyten ( $r=0,437$ ,  $p=0,047$ ,  $n=21$ ; siehe Abbildung 53).

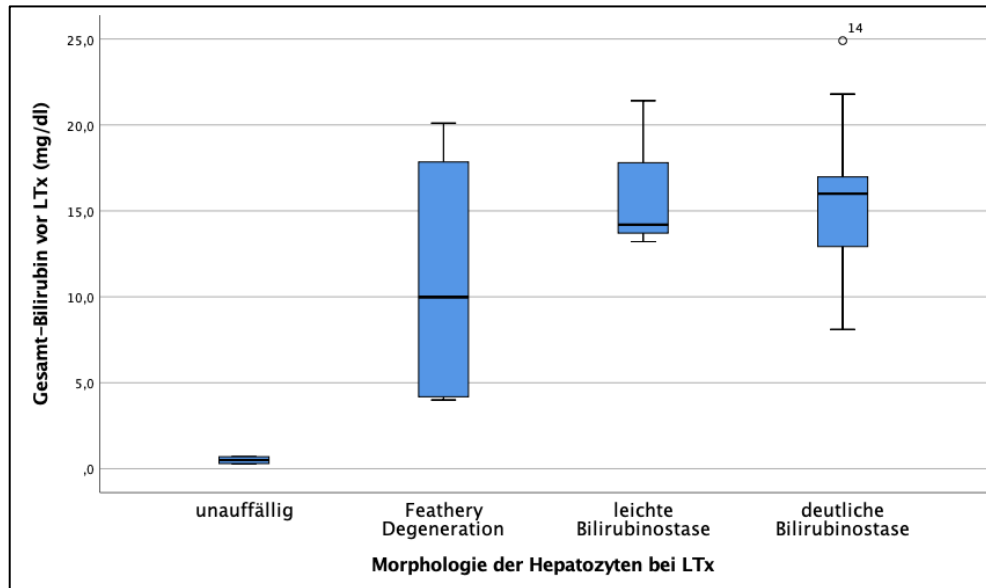


Abbildung 53: Morphologie der Hepatozyten im Zusammenhang mit Bilirubinspiegeln bei Lebertransplantation

### 3.8.7 Unterschiede in der histologischen Auswertung zwischen transplantierten und nicht transplantierten Patienten

Es unterschieden sich weder die Ishak-Scores noch die CK-7 Ausprägungen zum Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie zwischen den beiden Gruppen. Es konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen den Werten und der Notwendigkeit einer Lebertransplantation festgestellt werden. Es bleibt lediglich festzuhalten, dass die vier nicht transplantierten Kinder mit CK-7 Werten von null bis zwei augenscheinlich niedrige Werte hatten, beim Ishak-Score war dies nicht der Fall.

Bei der Ausprägung der vorhandenen Bile Plugs in den Portalfeldern zum Zeitpunkt der Kasai-Operation, zeigte sich ein Unterschied, allerdings ohne statistische Signifikanz (exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-1,287$ ,  $p=0,352$ ). Es hatten alle noch nicht transplantierten Kinder einen Wert von null.

Eine ähnliche Tendenz ließ sich beim Vorkommen von Rosettenformationen in den intraoperativ entnommenen Leberstanzbiopsien erkennen. Die vier Kinder, die bis heute nicht transplantiert wurden, hatten Werte von höchstens eins, drei von ihnen hatten einen Wert von null und somit keinerlei Rosettenformationen.

Die anderen erfassten histologischen Parameter zum Zeitpunkt der Kasai-Operation erbrachten keine Hinweise auf den Krankheitsverlauf der Kinder.

### 3.9 PELD-Score

#### 3.9.1 PELD-Score als Marker für pathologische Leberhistologie

Präoperative Werte für den PELD-Score lagen bei 20 von 26 Kindern vor. Er lag bei Werten zwischen drei und 28 (M=6,50, SD=5,643). Im Verlauf bis zur Lebertransplantation stieg der PELD-Score im Median auf einen Wert von 17,00 (R=-10-28, SD=7,768, siehe Tabelle 11). Patient Nr. 9 in der zugehörigen Abbildung 54 hatte direkt vor Lebertransplantation noch ein niedriges Bilirubin von 0,3 mg/dl und somit auch einen niedrigen PELD-Score.

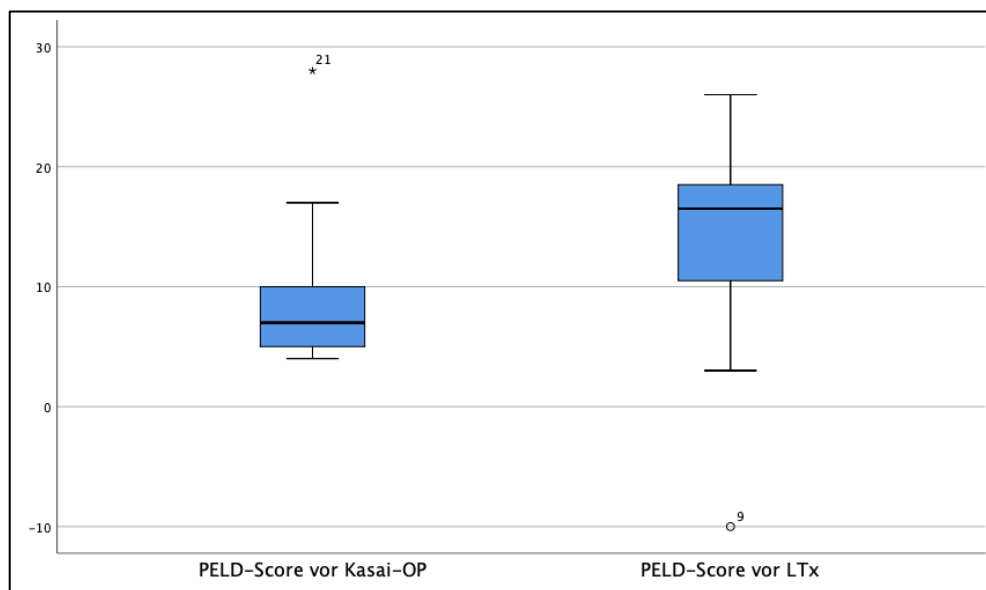


Abbildung 54: PELD-Scores zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und bei Lebertransplantation

PELD-Score	Kasai-Operation	Lebertransplantation
<b>Median</b>	6,5	17,0
<b>Range</b>	3 - 28	-10 - 26

Tabelle 11: PELD-Scores aller Patienten bei Kasai-Operation und Lebertransplantation

Der PELD-Score bei Kasai-Operation schien knapp oberhalb der Signifikanzgrenze mit dem Alter der Kinder zu diesem Zeitpunkt zu korrelieren ( $r=0,404$ ,  $p=0,077$ ,  $n=20$ ). Ebenso war ein Zusammenhang mit dem zeitlichen Abstand bis zur Lebertransplantation

zu erkennen, da ein niedriger PELD-Score auf ein längeres Überleben mit der eigenen Leber hindeutete. Allerdings konnte auch hier keine Signifikanz erreicht werden ( $r=-0,471$ ,  $p=0,056$ ,  $n=17$ ).

Im Hinblick auf die Histopathologie, korrelierte der PELD-Score weder zum Zeitpunkt der Kasai-Operation noch bei Lebertransplantation mit den histologischen Ergebnissen der entnommenen Gewebeproben. Es bestand insbesondere kein Zusammenhang zu den erhobenen Ishak-Scores oder den CK-7 Werten.

Im postoperativen Verlauf nach Kasai-Operation änderte sich der PELD-Score bis zur Kontrolluntersuchung nach drei Monaten im Gesamtkollektiv nicht signifikant (exakter Wilcoxon-Test:  $z=-0,578$ ,  $p=0,592$ ).

### 3.9.2 Verlauf des PELD-Scores in den Subgruppen transplantierte und nicht transplantierte Patienten

Die PELD-Scores der bis heute nicht transplantierten Kinder unterschieden sich zum Zeitpunkt der Kasai-Operation signifikant von den Werten der bereits lebertransplantierten Patienten (siehe Abbildung 55). Die vier Kinder ersterer Gruppe hatten Scores von drei und fünf ( $M=5,00$ ,  $SD=1,155$ ,  $n=3$ ), während die Werte letzterer Gruppe zwischen vier und 28 lagen ( $M=7,00$ ,  $SD=5,882$ ,  $n=17$ ; exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-2,102$ ,  $p=0,040$ ; siehe Tabelle 12). Ein niedriger PELD-Score kann hier als prognostischer Marker herangezogen werden.

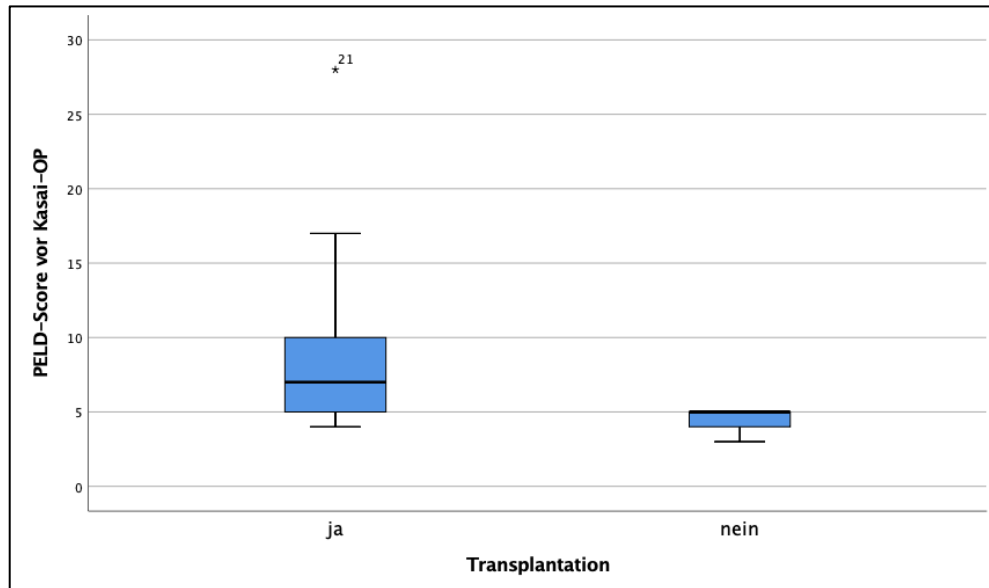


Abbildung 55: Boxplot über den Zusammenhang von PELD-Scores vor Kasai-Operation und Transplantationsstatus

In den Tendenzen der beiden Gruppen bei den bei der Nachuntersuchung nach drei Monaten erhobenen PELD-Scores war der Unterschied deutlicher. Hier lagen die Werte der nicht transplantierten Kinder zwischen minus sechs und minus drei (M=-4,00, SD=1,528, n=3), die der transplantierten Gruppe zwischen null und 25 (M=11,00, SD=6,971, n=11; exakter Mann-Whitney-U-Test:  $z=-2,572$ ,  $p=0,005$ ; siehe Abbildung 56).

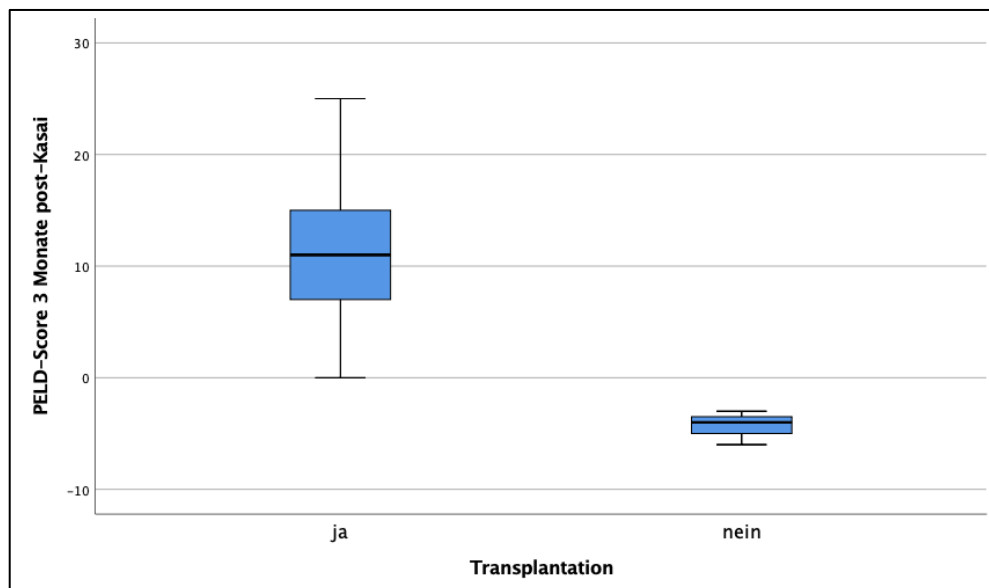


Abbildung 56: Boxplot über den Zusammenhang von PELD-Scores drei Monate nach Kasai-Operation und Transplantationsstatus

PELD-Score	Kasai-Operation	Kontrolle nach 3 Monaten
<b>Transplantierte</b>	7,0 (4-28)	11,0 (0-25)
<b>Nicht Transplantierte</b>	5,0 (3-5)	-4,0 (-6 - -3)
<b>Mann-Whitney-U-Test</b>	p=0,040	p=0,005

Tabelle 12: PELD-Scores zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und drei Monate postoperativ

### 3.10 Übersicht der Ergebnisse

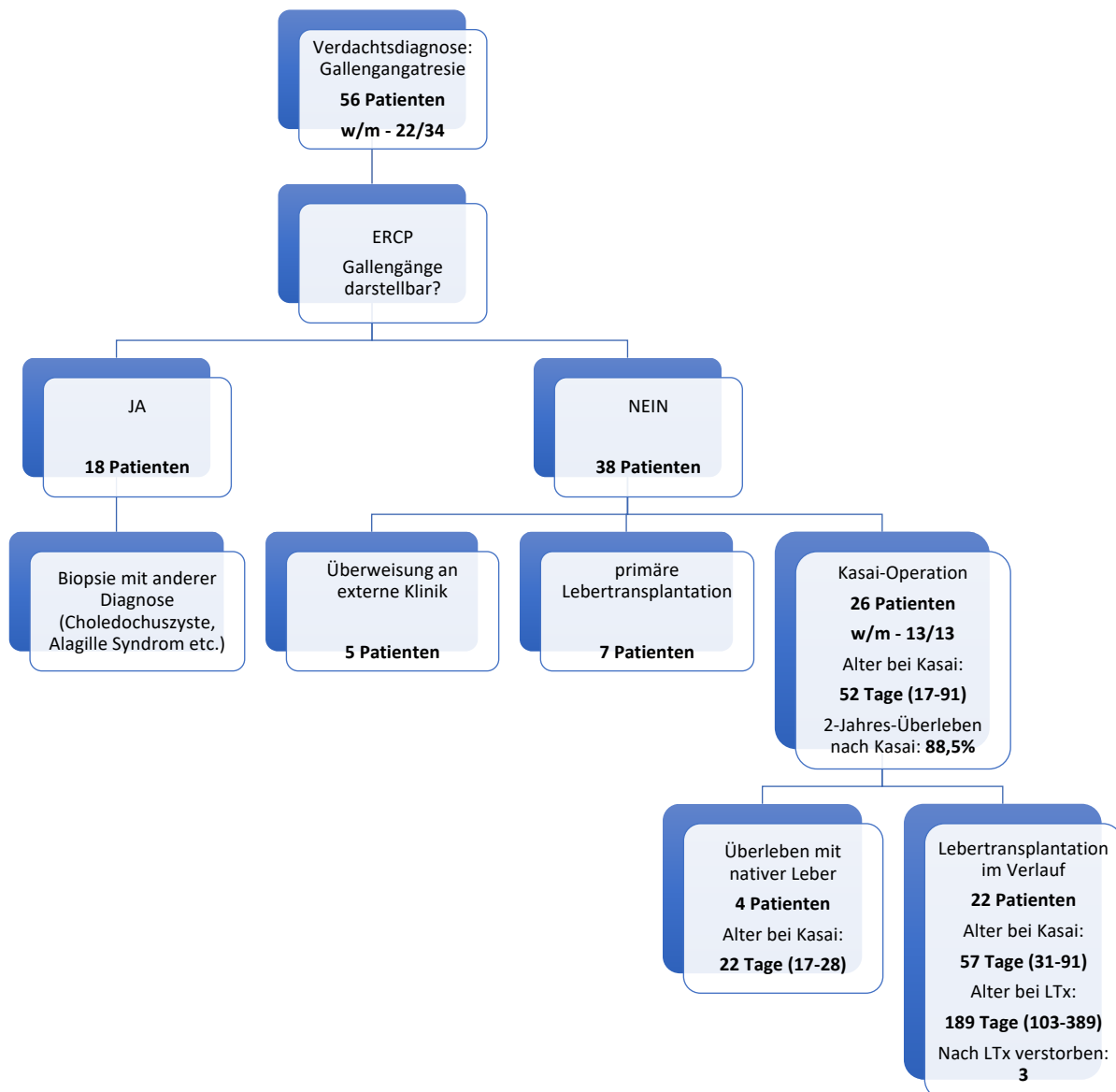


Tabelle 13: Übersicht demographischer und zeitlicher Daten

	Ohne Lebertrans- plantation (n=4)	Mit Lebertrans- plantation (n=22)	P-Wert
Alter bei Kasai-Operation	22 (17-28)	57 (16-91)	P=0,002**
Alter bei LTx	-	189 (103-389)	-
GOT bei Kasai-Operation (U/l)	69 (48-83)	168 (98-604)	P=0,000**
GOT 3 M. postoperativ (U/l)	42 (35-109)	298 (62-553)	P<0,05*
GOT bei LTx (U/l)	-	187,5 (69-697)	-
GPT bei Kasai-Operation (U/l)	40 (26-48)	117 (53-401)	P=0,000**
GPT 3 M. postoperativ (U/l)	39,5 (34-122)	170,5 (30-436)	P<0,05*
GPT bei LTx (U/l)	-	101 (21-417)	-
Bilirubin bei Kasai-Operation (mg/dl)	7,55 (3,9-12,3)	7,6 (4,3-9,8)	P>0,05
Bilirubin 3 M. postoperativ (mg/dl)	0,6 (0,1-1,2)	10,18 (0,3-21,9)	P<0,05*
Bilirubin bei LTx (mg/dl)	-	14,85 (0,3-24,9)	-
De-Ritis-Quotient bei Kasai- Operation	1,89 (1,35-1,97)	1,52 (1,04-2,45)	P>0,05
De-Ritis-Quotient 3 M. postoperativ	0,96 (0,83-1,35)	1,64 (0,68-2,22)	P<0,05*
De-Ritis-Quotient bei LTx	-	1,83 (1,12-3,29)	-
PELD-Score bei Kasai-Operation	5 (3-5)	7 (4-28)	p>0,05
PELD-Score 3 M. postoperativ	-4 (-6 - -3)	11 (0-25)	P=0,005**
PELD-Score bei LTx	-	17 (-10-26)	-
ISHAK-Score bei Kasai- Operation	3,25 (1-5)	3,52 (2-6)	p>0,05
ISHAK-Score bei LTx	-	5,62 (4-6)	-
CK 7 bei Kasai-Operation	1,0 (0-2)	1,0 (0-2)	p>0,05
CK 7 bei LTx	-	2,0 (2-3)	-

Tabelle 14: Tabellarischer Vergleich der Daten transplantierte und nicht transplantierte Patienten (signifikante Korrelationen mit einem  $p<0,05$  mit \* markiert, sehr signifikante und hochsignifikante Korrelationen mit einem  $p<0,01$  mit \*\* markiert)



### 3.11 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zwischen April 2009 und September 2015 wurde in der Klinik St. Hedwig bei 26 Patienten mit Gallengangatresie eine Hepatoportoenterostomie nach Kasai durchgeführt. Von diesen Patienten mussten sich im Studienzeitraum 22 einer Lebertransplantation unterziehen. Die vier Patienten, die nicht transplantiert werden mussten, wurden signifikant früher nach Kasai operiert, als die Gruppe der Lebertransplantierten. Ihre Operation fand im Median im Alter von 22 Tagen statt.

In den Auswertungen der präoperativen sonographischen Diagnostik konnte ein Zusammenhang zwischen der Konfiguration der Gallenblase und dem Alter der Patienten bei Kasai-Operation nachgewiesen werden. Diejenigen, deren Gallenblase deutlich zu klein oder nicht darstellbar war, wurden signifikant früher operiert, als dies bei regelrechter sonographischer Darstellung der Gallenblase der Fall war.

Bei der Untersuchung der Laborwerte zeigte sich, dass diejenigen Patienten, die nicht lebertransplantiert werden mussten, zum Zeitpunkt der Operation nach Kasai signifikant niedrigere Werte der Leberenzyme vorzuweisen hatten. Zudem konnte dem De-Ritis-Quotienten ein prognostischer Wert nachgewiesen werden. In den Kontrolluntersuchungen nach drei Monaten hatten nicht transplantierte Patienten signifikant niedrigere Werte. Ebenso lässt in der Kontrolluntersuchung nach drei Monaten ein niedriger Bilirubinspiegel Rückschlüsse auf den Krankheitsverlauf zu. Je höher der Rückgang des Bilirubins im Vergleich zu den Werten vor der Kasai-Operation ist, desto unwahrscheinlicher ist die Notwendigkeit einer zeitnahen Transplantation. Bei den lebertransplantierten Patienten stieg der Bilirubinspiegel bis zum Zeitpunkt der Kontrolle nach drei Monaten an.

Bei der histologischen Auswertung der Leberstanzbiopsien und explantierten Lebern zeigte sich, dass ein pathologisch erhöhter Wert von CK-7 oder Ishak-Score kein Hinweis auf eine baldige Lebertransplantation ist. Hier ergab sich zudem die Tendenz, dass die nicht transplantationsbedürftigen Patienten niedrigere Scores bei der Beurteilung der Morphologie der Hepatozyten und dem Vorkommen von Bile Plugs zum Zeitpunkt der Kasai-Operation aufwiesen. Es bestand allerdings kein statistisch signifikanter Zusammenhang. Patienten mit hohen Bilirubinspiegeln bei Lebertransplantation wiesen

höhere Scores bezüglich der Bile Plugs und der veränderten Morphologie der Hepatozyten auf.

Die Kinder, die bis Studienende mit ihrer nativen Leber überlebten, hatten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation einen signifikant niedrigeren PELD-Score, als die bereits transplantierten Patienten. Noch deutlicher war dieser Unterschied in der Kontrolluntersuchung nach drei Monaten.

## 4. Diskussion

### 4.1 Der geeignete Zeitpunkt für die Hepatoportoenterostomie nach Kasai

In der Literatur werden verschiedene Cut-off-Werte für denjenigen Operationszeitpunkt definiert, der den Patienten Vorteile im Hinblick auf den weiteren Krankheitsverlauf erbringen könnte. Eine Aufteilung unseres Untersuchungskollektivs konnte nur analog zu neueren Studien wie beispielsweise von Mieli-Vergani et al., Chardot et al., Lally et al., Nio et al. und Lin et al. erfolgen, da alle bis auf einen Patienten in einem Alter von unter 90 Tagen operiert wurden, was einen Cut-off-Wert von 12 Wochen wie in der Studie von Hitch et al. ausschloss (vgl. Abschnitt 1.6.1).

Chardot et al. untersuchten wie auch Hitch et al. den Einfluss des Operationszeitpunktes der Hepatoportoenterostomie im Hinblick auf das Überleben mit der eigenen Leber und das Gesamtüberleben. Mieli-Vergani et al. setzten in ihrer Studie den Fokus auf das Alter als Einflussfaktor auf das postoperative Verschwinden eines klinisch sichtbaren Ikterus und fanden als Cut-off-Wert ein Lebensalter von acht Wochen. [48, 49, 50]

Beide Varianten waren in unserem Studienkollektiv nicht auswertbar, einerseits weil zu letzterem keine Daten vorlagen und andererseits, weil keine signifikanten Aussagen zu Unterschieden im Überleben abhängig vom Alter bei Kasai-Operation vorgenommen werden konnten.

Es bleibt festzuhalten, dass trotz des allgemeinen Konsenses in der Literatur in unserer Studie nicht bestätigt werden konnte, dass eine Einteilung eines Patientenkollektivs anhand eines definierten Cut-off-Wertes in zwei Gruppen den früher einer Operation zugeführten Patienten im weiteren Krankheitsverlauf deutliche Vorteile verspricht. Es konnten mit keinem der Cut-off-Werte signifikante Unterschiede nachgewiesen werden, was das Überleben mit der eigenen Leber oder den postoperativen Bilirubin-Abfall anbelangte.

Dies liegt vermutlich hauptsächlich an der geringen Anzahl an Patienten und einer relativ geringen Schwankungsbreite des Lebensalters zum Zeitpunkt der Kasai-Operation innerhalb der Gruppe der bereits transplantierten Kinder, wegen derer die Berechnungen an der statistischen Signifikanz scheiterten. Auch die Tatsache, dass ein früher

Operationszeitpunkt im statistischen Vergleich der beiden Untergruppen „transplantierte Patienten“ und „nicht-transplantierte Patienten“ ein wahrscheinlicheres Überleben mit der eigenen Leber nahelegt, unterstützt diese Vermutung.

#### 4.2 Notwendigkeit einer Lebertransplantation im Zusammenhang mit dem Zeitpunkt der Hepatoportoenterostomie nach Kasai

Es ist allerdings bei unseren Untersuchungen eindeutig festzustellen, dass im Vergleich der beiden Gruppen „transplantierte Kinder“ vs. „nicht transplantierte Kinder“ ein Zusammenhang mit dem Alter besteht (vgl. Abschnitt 3.2). Somit lässt sich zwar wie bereits erwähnt in der Gruppe der transplantierten Kinder keine Korrelation zwischen dem Abstand von Kasai-Operation und Transplantation herstellen, es korreliert der Zeitpunkt der Kasai-Operation allerdings sehr wohl mit der grundsätzlichen Unterscheidung, ob ein Kind im Verlauf der nächsten ungefähr zwei Jahre, die die Studie überblicken kann, eine Lebertransplantation braucht oder nicht. Hierfür wurde mit einem negativen prädiktiven Wert von 80% ein gut zu verwendender Cut-off-Wert von 30 Lebenstagen gefunden. Dieser Cut-off-Wert liegt nochmal deutlich niedriger, als der Wert von 60 Tagen, den Lin et al. 2015 in ihrer retrospektiven Kohortenstudie für ein Überleben mit der eigenen Leber in einem Nachbeobachtungszeitraum von mehreren Jahren festlegten. Um sicherzustellen, dass es sich hierbei trotz der kleinen Population unserer Studie um ein valides Ergebnis handelt, müssten ebenfalls unbedingt größere Untersuchungen mit längeren Beobachtungszeiträumen angeschlossen werden. Lin et al. untersuchten beispielsweise 540 Fälle von Gallengangatresie in Taiwan in den Jahren 1997 bis 2011. [5]

#### 4.3 Prognostische Labormarker zum Zeitpunkt der Kasai-Operation

Es wurden in der Vergangenheit viele Parameter untersucht, die bei Diagnosestellung und vor der Entscheidung zur Durchführung einer Hepatoportoenterostomie deren Erfolg und den möglichen weiteren Verlauf der Erkrankung vorhersagen sollen. Bis jetzt ist es nicht gelungen, hier zweifelsfreie Ergebnisse zu erlangen. [47]

Sucht man nach Werten, die bereits bei Erstdiagnose eine Unterscheidung möglich machen sollen, ob eine Kasai-Operation den gewünschten Effekt einer suffizienten Galledrainage in den Dünndarm bringen wird, so können nur die erhobenen Laborwerte, eventuell erhobene Scores und präoperativen Untersuchungen herangezogen werden. Histologische Untersuchungen von Leberstanzbiopsien können nur zu Prognosezwecken genutzt werden, wenn diese vor einer etwaigen Kasai-Operation erfolgen.

Unter den präoperativ erhobenen Laborwerten konnte in unserer Studie den Werten der GOT und GPT ein prognostischer Nutzen nachgewiesen werden. Es konnte zwar im Gesamtkollektiv der 22 transplantierten Patienten nicht von der Höhe der GOT oder GPT zum Zeitpunkt der Kasai-Operation auf die Dauer eines Überlebens mit ihrer nativen Leber geschlossen werden, aber im retrospektiven Vergleich dieser Gruppe mit den vier bisher nicht transplantierten Kindern zeigt sich ein deutlicher Unterschied in den Mittelwerten. Kinder mit einem niedrigen Wert vor der Hepatoportoenterostomie brauchten im Verlauf der Studie keine Transplantation und für beide Laborwerte lagen Bereiche idealer Cut-off-Werte vor (vgl. Abschnitt 3.5.3). Eine Unterscheidung ob überhaupt eine Lebertransplantation im Verlauf der nächsten Jahre nötig wird, ist somit möglich.

Dieser Zusammenhang muss in Zukunft durch größere Studien mit mehr Patienten überprüft werden. Eventuell lässt sich in größeren Kohorten auch ein Zusammenhang zwischen GOT, GPT und der Zeitdauer bis zur Transplantation herstellen.

Die Patienten mit hohen Werten der Leberenzyme waren gleichzeitig auch diejenigen, die im Verhältnis zu den anderen eher spät nach Kasai operiert worden waren (vgl. Abschnitt 3.5.1). Daraus lässt sich ableiten, dass ein vorteilhafter früher Operationszeitpunkt (vgl. Abschnitt 4.1) wohl in der Regel mit einem geringen Ausmaß der Leberschädigung einhergeht, wenn man als Maß hierfür die GOT und GPT heranzieht.

Kashish et al. gelang es 2018 einen Zusammenhang zwischen dem postoperativen Abfall des Bilirubins im stationären Verlauf nach Hepatoportoenterostomie und dem Auftreten eines Ikterus drei Monate nach Operation herzustellen. [84] Diese Korrelation konnte bei uns exakt so nicht untersucht werden, da nicht ausreichend Daten zum Vorliegen eines Ikterus bei der Nachuntersuchung vorlagen. Unter der Prämisse, dass ein ikterisches Hautkolorit abhängig von der Höhe des Gesamtbilirubins auftritt, konnten wir dies allerdings nicht bestätigen.

Der postoperative stationäre Verlauf des Bilirubins unterschied sich in unserer Studie wie in Abschnitt 3.6.2 festgestellt nicht zwischen den Gruppen der transplantierten und der nicht transplantierten Kinder. Wir stellten im Gegensatz zu Chusilp et al. keine Vorteile eines höheren Rückgangs des Bilirubins im Hinblick auf ein transplantatfreies Überleben fest. [72] Diese Berechnungen scheiterten womöglich aufgrund unseres kleinen Untersuchungskollektivs an der statistischen Signifikanz.

Der Abfall des Bilirubins nach Kasai-Operation stand nur insofern mit den Werten drei Monate postoperativ in Zusammenhang, als dass ein hoher Rückgang im stationären Verlauf mit einem höheren Rückgang bis zur Kontrolle nach drei Monaten einherging. Allerdings wies ein starker Abfall postoperativ nicht auf niedrigere absolute Bilirubinwerte nach drei Monaten hin.

#### 4.4 Verlaufparameter drei Monate nach Kasai-Operation

Was die Leberenzyme GOT und GPT betrifft, ließen sich in den Kontrolluntersuchungen nach drei Monaten ähnliche Ergebnisse finden, wie vor der Hepatopertoenterostomie. Es hatten wieder diejenigen Kinder die niedrigsten Werte, die nicht transplantiert werden mussten (vgl. Abschnitt 3.5.3).

Zusätzlich fiel hier auf, dass der De-Ritis-Quotient sich anders als zum Operationszeitpunkt in den beiden Gruppen deutlich unterschied. Waren die Werte der bis Studienende nicht transplantierten Kinder in der ersten Untersuchung im Median noch etwas höher, als die Werte der im Verlauf transplantierten Patienten, so lagen ihre Werte nach drei Monaten dann deutlich unter denen der transplantierten Gruppe. Die Leber schien sich hier soweit erholt zu haben, dass der Untergang der Hepatozyten deutlich zurückgegangen war.

Da der Wert zum Operationszeitpunkt bei beiden Gruppen hoch ist, ist die Leberschädigung beider Gruppen als gleichermaßen ausgeprägt anzunehmen, es kam in beiden Gruppen zu einer vermehrten Freisetzung von zytoplasmatischen und mitochondrialen Enzymen aus untergegangenen Hepatozyten. Da der De-Ritis-Quotient lediglich ein dimensionsloses Verhältnis der beiden Laborwerte wiedergibt, ist dies

durchaus mit den bereits erläuterten Ergebnissen, dass die nicht transplantierte Gruppe niedrigere absolute Werte der GOT und GPT aufweist, vereinbar.

Zusätzlich zu den Leberenzymen fiel in den Kontrollen nach drei Monaten auf, dass die Bilirubinspiegel der beiden Subgruppen der transplantierten und der nicht transplantierten Kinder deutliche Unterschiede aufwiesen. Während sich beim postoperativen stationären Abfall noch keine signifikanten Abweichungen der transplantierten Patienten gegenüber den nicht transplantierten zeigten (vgl. Abschnitt 3.6.1), so zeigte sich jetzt eine mediane Differenz des Sinkens des Bilirubins von 9,06 mg/dl. Die Kinder, die keine Transplantation im Studienverlauf benötigten, hatten nach drei Monaten also signifikant niedrigere Bilirubinwerte (vgl. Abschnitt 3.6.2).

Dieser Zusammenhang lässt vermuten, dass mit Hilfe der Kasai-Operation im gesamten Kollektiv kurzfristig eine Wiederherstellung des Galleflusses erreicht wurde, der allerdings nur bei einem Teil der Patienten drei Monate später noch suffizient war. Der Krankheitsverlauf scheint somit in unserer Studie nicht nur vom Erfolg der Operation abzuhängen, sondern auch von sekundären Faktoren.

Als ein wichtiger sekundärer Einflussfaktor wird der postoperative Einsatz von Steroiden diskutiert. Ob und wie diese am besten einzusetzen sind, ist noch nicht abschließend geklärt. Es existieren sowohl Studien, die eine generelle Behandlung mit Kortikosteroiden nach Kasai-Operation als günstig ansehen was die Entwicklung entzündlicher Komplikationen angeht, als auch Arbeiten, die Steroiden keinerlei Vorteile was das Langzeitüberleben mit der eigenen Leber betrifft, bescheinigen. [77, 85, 86, 78]

Die Studien, die Kortikosteroiden eine positive Wirkung bescheinigen, unterliegen klaren Limitationen. Beispielsweise liegt in einer retrospektiven Studie das Alter zum Zeitpunkt der Kasai-Operation in der Gruppe der intravenös behandelten Kinder deutlich unter dem der Vergleichsgruppe, die nur mit oralem Prednisolon behandelt wurde. Zudem wurden die Patienten mit intravenösen Antibiotika behandelt, was das Ergebnis der Studie ebenfalls hätte beeinflussen können. [77]

Die Rolle der postoperativen Therapie mit Kortikosteroiden konnte von uns bedingt durch das retrospektive Studiendesign nicht überprüft und untersucht werden, da Steroide in der Klinik St. Hedwig postoperativ nicht angewandt werden.

#### 4.5 Ishak-Score und CK-7 als prognostisches Instrument

Einen großen Teil der vorliegenden Arbeit nahmen die histologischen Untersuchungen und Auswertungen ein.

Hierfür wurden von allen zur Verfügung stehenden Gewebeproben neue wie in Abschnitt 2.4 beschriebene Färbungen angefertigt und gesichtet. Nach ausführlichen statistischen Tests muss festgehalten werden, dass eine Auswertung des Ishak-Scores in den bei oder vor Kasai-Operation entnommenen Leberstanzbiopsien in unserer Studie keinen prognostischen Wert hat.

Die Werte der Leberenzyme, die sich in den Untergruppen der transplantierten und der nicht transplantierten Kinder zu diesem Zeitpunkt durchaus deutlich unterschieden (vgl. Abschnitt 3.5.3), spiegelten sich im mikroskopischen Zustand der Leber nicht wider. Auch Kinder mit einer im histologischen Präparat augenscheinlich weit fortgeschrittenen Fibrose hatten entgegen unserer anfänglichen Vermutung das Potential, sich postoperativ sehr gut zu erholen und im Verhältnis zu anderen Studienpatienten noch lang mit ihrer eigenen Leber zu überleben. Es gelang weiterhin nicht, eine Korrelation zwischen dem Ausmaß der Leberfibrose bei der Hepatoportoenterostomie und dem Abfall des Bilirubins bis zur Kontrolluntersuchung nach drei Monaten herzustellen, das sich in unserer Studie als guter prognostischer Marker erwiesen hat.

Pape et al. zeigten in ihrer Arbeit 2009 einen Zusammenhang zwischen dem quantitativen Grad der Leberfibrose und dem Bilirubin sechs Monate nach Kasai-Operation. [87] Dies konnten wir in unserer Studie so nicht testen, da ein halbes Jahr nach der Operation bedingt durch unser kleines Patientenkollektiv nur noch Werte von elf Patienten vorlagen. Die anderen waren bereits transplantiert worden und konnten somit in diesem Sinne nicht mehr nachbeobachtet werden. Auch hier müssen wieder größere Studien folgen, um diesen Zusammenhang zweifelsfrei nachzuweisen.

Ganz ähnlich wie mit dem Ishak-Score verhält es sich mit der immunhistochemischen Anfärbung des CK-7. Auch hier zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit dem transplantatfreien Überleben und auch keine Unterschiede dahingehend, ob der Patient überhaupt lebertransplantiert werden muss. Betrachtet man die Werte der vier nicht transplantierten Patienten, die alle zwischen null und zwei liegen, so vermag hier



allerdings eine Tendenz zu erkennen sein. In größeren Studien könnte diesem Marker also womöglich doch ein Nutzen nachgewiesen werden.

Für den Moment bleibt zu sagen, dass von einer routinemäßigen Anwendung der Färbemethoden als Prognoseparameter abzuraten ist, da sie nicht vermögen die Prognose der Patienten vorherzusagen.

#### 4.6 PELD-Score

Zwischen dem PELD-Score vor der Operation nach Kasai, dem Alter der Kinder zu diesem Zeitpunkt und dem Überleben mit der eigenen Leber konnte in dieser Arbeit kein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden (vgl. Abschnitt 3.9). Es zeichnete sich aber die Tendenz ab, dass jüngeren Kindern, die im Median auch wesentlich niedrigere Werte für GOT und GPT aufwiesen, einen eher niedrigeren PELD-Score hatten und diejenigen Kinder mit den niedrigen PELD-Scores auch später lebertransplantiert werden mussten.

Dass diese Zusammenhänge nicht signifikant nachgewiesen werden konnten, liegt vermutlich auch hier wiederum an einem zu kleinen Studienkollektiv. Es ist anzunehmen, dass diese Tendenzen zutreffend sind, da in der Literatur mehrere Arbeiten, die sich mit dem prognostischen Wert des PELD-Scores beschäftigen, zu ähnlichen Ergebnissen kommen. Bereits 2003 zeigten Shinkai et al., dass der PELD-Score ein objektiver Parameter ist, die Prognose von Patienten mit Gallengangatresie in messbare und vergleichbare Zahlenwerte umzuwandeln. [82] In der retrospektiv angelegten Studie hatten Patienten, die innerhalb der ersten zwei Jahre nach Kasai-Operation nicht transplantiert werden mussten, in den Nachuntersuchungen deutlich niedrigere Werte als Kinder, die eine Lebertransplantation erhalten mussten. Dieses Ergebnis deckt sich mit unserer Erkenntnis, dass die Werte drei Monate nach der Hepatoportoenterostomie in diesen beiden Gruppen signifikant unterschiedlich sind. Während bei den zu transplantierenden Kindern die Werte sogar anstiegen, stabilisierten sich die Kinder, die ohne Transplantation auskommen und ihre Werte sanken bis zu diesem Zeitpunkt (vgl. Abschnitt 3.9.2).

Rhu et al. zeigten 2012, dass ein PELD-Score von über 15 bei Durchführung der Kasai-Operation mit einer höheren Wahrscheinlichkeit der Notwendigkeit einer Lebertransplantation einhergeht. [83] Dieser Cut-off muss bei uns deutlich niedriger angesetzt werden, da alle nicht transplantierten Kinder Werte von höchstens fünf aufweisen. Man kann in unserer Studie feststellen, dass ein Kind mit einem PELD-Score von über fünf sicher lebertransplantiert werden musste (Sensitivität 70,6%, Spezifität 100%, PPI 100%). Umgekehrt kann man sagen, dass ein Kind mit einem PELD-Score von unter vier ohne Lebertransplantation überlebte (Sensitivität 33,3%, Spezifität 100%, PPI 100%).

Dass der Cut-off-Wert bei Rhu et al. wesentlich höher liegt, als bei uns, kann daran liegen, dass die Kinder in unserer Studie in einem jüngeren Alter operiert worden sind, in dem der PELD-Score noch deutlich niedriger ist. Warum in dieser Studie viele Kinder mit Werten deutlich über unserem Cut-off von fünf nicht transplantiert werden mussten, wohingegen bei uns alle mit einem PELD-Score über fünf transplantiert wurden, kann mit unserer Studie nicht abschließend geklärt werden.

## 5. Zusammenfassung

Die Gallengangatresie stellt weltweit den häufigsten Grund für kindliche Lebertransplantationen dar.

Die primäre Behandlung besteht meist aus einer in den ersten Lebenswochen durchgeführten Hepatoportoenterostomie nach Kasai um den kompromittierten Gallefluss wiederherzustellen, was das Überleben der Patienten mit der eigenen Leber aber nur in den seltensten Fällen dauerhaft sichert.

Es existieren bis heute kaum zuverlässige Parameter in der Literatur, die es ermöglichen, den Verlauf der Erkrankung vorherzusehen, weshalb sich diese Studie anhand von 26 in der Kinderklinik St. Hedwig in Regensburg nach Kasai operierter Kinder insbesondere mit dem Zusammenhang zwischen Labormarkern und histopathologischen Befunden der Leber beschäftigt.

Es zeigte sich, dass bezüglich des Alters zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ein Cut-off-Wert von 30 Tagen einen Indikator für den Verlauf darstellen kann. Alle Patienten, die in einem höheren Lebensalter operiert wurden, mussten im Studienverlauf lebertransplantiert werden (Sensitivität 95,5%, Spezifität 100%).

Die einzigen präoperativ bereits aussagekräftigen Laborparameter scheinen die Leberenzyme GOT und GPT zu sein. Ein niedriger Wert ging mit einem deutlich längeren transplantationsfreien Überleben einher.

Auch dem PELD-Score zum Zeitpunkt der Kasai-Operation kann in unserer Studie eine signifikante Bedeutung beigemessen werden. Im Vergleich mit der Gruppe der transplantierten Kinder, zeigten Patienten, die bis zum Endpunkt der Studie mit ihrer eigenen Leber überlebt hatten, deutlich niedrigere Werte. Dieser Zusammenhang bestätigte sich auch noch in den postoperativen Kontrollen nach drei Monaten.

Hat die Hepatoportojejunosomie bereits stattgefunden, und man untersucht die intraoperativ gewonnenen Leberstanzbiopsien histologisch, so zeigt sich kein Zusammenhang zwischen dem mikroskopischen Zustand der Leber und dem weiteren Krankheitsverlauf. Die Bestimmung des ISHAK-Scores, also des Grades der Fibrosierung, oder die immunhistochemische Bestimmung der CK-7-Expression der Hepatozyten als Hinweis auf eine pathologische Vermehrung von Gallengängen, haben



keinen prognostischen Wert. Von einem routinemäßigen Einsatz der Methoden kann aktuell somit abgesehen werden.

Bei den postoperativen Kontrolluntersuchungen in den Monaten nach der Operation bietet sich neben der bereits erwähnten Berechnung des PELD-Scores die Bestimmung der Leberenzyme und des Gesamtbilirubins an. Ein niedriger De-Ritis-Quotient nach drei Monaten geht mit einer deutlichen niedrigeren Wahrscheinlichkeit einher, lebertransplantiert werden zu müssen. Ebenso verhält es sich mit den Werten des Bilirubins. Diejenigen Patienten, die zur Kontrolluntersuchung nach drei Monaten niedrige Werte aufwiesen, mussten weniger wahrscheinlich transplantiert werden.

Abschließend bleibt anzuerkennen, dass eine der Seltenheit der Erkrankung geschuldete Studienpopulation von nur 26 Patienten nur begrenzt Aussagen zulässt. Es zeichnen sich aber eindeutige Hinweise auf die Bedeutung von Parametern wie dem Zeitpunkt der Kasai-Operation, dem Verlauf des Bilirubins, dem PELD-Score und der Leberenzyme ab, deren Bedeutung es in der Zukunft weiter zu evaluieren gilt.

## 6. Anhang

Kopie Nov

 Universität Regensburg	<b>Institut für Pathologie</b> Prof. Dr. M. Evert	 Universitätsklinikum Regensburg
<b>Siriusrot</b>		Rezepturhandbuch

### 1. Färbung

Schnitte entparaffinieren und bis zum Aq. dest. führen

Arbeits-schritt	Reagenz	Zeit min	Bemerkungen
1.	Weigert-Eisenhämatoxylin	10'	
2.	Leitungswasser	1	spülen
3.	Siriusrot	15	
4.	2x 100 % Isopropanol		spülen
5.	Isopropanol		
6.	Xylol		
7.			eindeckeln

### 2. Reagenzienherstellung

Weigert-Eisenhämatoxylin: Weigert A und Weigert B (beide gebrauchsfertig)

1+1 mischen (erneuern nach Sichtkontrolle)

Sirius-Rot: 0,1 g F3B Siriusrot

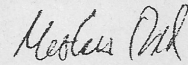
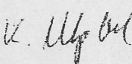
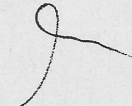
100 ml gesättigte, wässrige Pikrinsäure

### 3. Ergebnis:

Bindegewebe: rot

Parenchym: gelb

Zellkerne: bräunlich

Erstellt: M. Rückl	Datum: 23.10.15	Unterschrift: 
Geprüft: Dr. K. Utpatel	Datum: 27.10.15	Unterschrift: 
Freigegeben: Prof. Dr. M. Evert	Datum: 27.10.15	Unterschrift: 

## Zusammenfassung

Prozedur: U OptiView DAB IHC v5 ( v1.00.0117 )

BenchMark ULTRA IHC/ISH Staining Module

Universitaet Regensburg Pathologie, Franz-Josef-Strauss-Allee 11 93053 Regensburg



Protokoll-Nr.	Protokollname	erstellt am
32	.CK 7 <i>A: 400</i>	22.03.2017

- 1 Paraffin [Ausgewählt]
- 2 Entparaffinierung [Ausgewählt]
- 3 Objektträger-Temperatur von [72 °C] auf Mittlere Temperaturen ( Entparaffinierung ) erhöhen
- 4 Hitzevorbehandlung [Ausgewählt]
- 5 Ultra CC1 [Ausgewählt]
- 6 Erwärme Objektträger auf [95 °C] und inkubiere für 4 Minuten ( Cell Conditioner Nr.1 )
- 7 CC1 8 Min [Ausgewählt]
- 8 CC1 16 Min [Ausgewählt]
- 9 CC1 24 Min [Ausgewählt]
- 10 Vor-Primärperoxidase-Hemmer [Ausgewählt]
- 11 Primär Antikörper [Ausgewählt]
- 12 Coverslip auftragen, einen Tropfen von [PREP KIT 32] ( Antikörper ) auftragen und für [0 Stunden 12 Min] inkubieren
- 13 Gegenfärbung [Ausgewählt]
- 14 1 Tropfen von [COUNTERSTAIN 1] ( Gegenfärbung ) auftragen, LCS auftragen u. für [8 Minuten] inkubieren.
- 15 Nach-Gegenfärbung [Ausgewählt]
- 16 1 Tropfen von [BLUING REAGENT] ( Nach-Gegenfärbung ) auftragen, LCS auftragen u. für [4 Minuten] inkubieren.

\* Ein Tropfen entspricht einer Reagenzienabgabe  
Universitaet Regensburg Pathologie, Franz-Josef-Strauss-Allee 11 93053 Regensburg  
VSS v12.3 Build 0055

Gedruckt 17.09.2018 09:35:51  
Seite 1 von 1

Kopie Max

 Universität Regensburg	<b>Institut für Pathologie</b> Prof. Dr. F. Hofstädter	 Universitätsklinikum Regensburg
<b>HE - Automat</b>	Rezepturhandbuch	

**1. Färbeprotokoll**



**a) HE, 1. Lauf (für die ersten vier Läufe zu Beginn des Tages! Temperatur!)**

Step	Station	Solution	Time	Delay	Mix
1	S*	Start Station	--:--:--		
2	D*	Drying Station	00:14:00	**	OFF
3	27	Xylol	00:02:00	**	ON
4	26	Xylol	00:02:00	**	ON
5	25	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
6	24	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
7	23	Isopropanol 70 %	00:01:30	**	ON
8	W*	Wash Station	00:01:45	**	OFF
9	4	Haemalaun	00:05:15	20%	ON
10	11	Ad + 0,22 % HCl-Alkohol	00:01:45	20%	ON
11	W*	Wash Station	00:03:00	20%	OFF
12	3	Eosin	00:03:30	20%	ON
13	W*	Wash Station	00:01:45	20%	OFF
14	2	Isopropanol 70 %	00:01:30	50%	ON
15	1	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
16	9	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
17	21	Xylol	00:02:30	**	ON
18	E*	End Station	--:--:--		

**b) HE**

Step	Station	Solution	Time	Delay	Mix
1	S*	Start Station	--:--:--		
2	D*	Drying Station	00:10:00	**	OFF
3	27	Xylol	00:02:00	**	ON
4	26	Xylol	00:02:00	**	ON
5	25	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
6	24	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
7	23	Isopropanol 70 %	00:01:30	**	ON
8	W*	Wash Station	00:01:45	**	OFF
9	4	Haemalaun	00:05:15	20%	ON
10	11	Ad + 0,22 % HCl-Alkohol	00:01:45	20%	ON
11	W*	Wash Station	00:03:00	20%	OFF
12	3	Eosin	00:03:30	20%	ON
13	W*	Wash Station	00:01:45	20%	OFF
14	2	Isopropanol 70 %	00:01:30	50%	ON

Kopie Max

 <b>Universität Regensburg</b>		<b>Institut für Pathologie</b> Prof. Dr. F. Hofstädter		 <b>Universitätsklinikum Regensburg</b>	
<b>HE - Automat</b>			Rezepturhandbuch		
15	1	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
16	9	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
17	21	Xylol	00:02:30	**	ON
18	E*	End Station	--:--:--		

c) HE, Großflächen

Step	Station	Solution	Time	Delay	Mix
1	S*	Start Station	--:--:--		
2	D*	Drying Station	00:12:00	**	OFF
3	43	Xylol	00:02:00	**	ON
4	41	Xylol	00:02:00	**	ON
5	39	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
6	37	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
7	35	Isopropanol 70 %	00:01:30	**	ON
8	W*	Wash Station	00:01:45	**	OFF
9	7	Haemalaun	00:05:15	20%	ON
10	19	Ad + 0,22 % HCl-Alkohol	00:01:45	20%	ON
11	W*	Wash Station	00:03:00	20%	OFF
12	5	Eosin	00:03:30	20%	ON
13	W*	Wash Station	00:01:45	20%	OFF
14	3	Isopropanol 70 %	00:01:30	50%	ON
15	1	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
16	15	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
17	31	Xylol	00:02:30	**	ON
18	PE	Program End Station	--:--:--		
18	E*	End Station	--:--:--		

d) HE, nativ

Step	Station	Solution	Time	Delay	Mix
1	S*	Start Station	--:--:--		
2	4	Haemalaun	00:05:15	20%	ON
3	11	Ad + 0,22 % HCl-Alkohol	00:01:45	20%	ON
4	W*	Wash Station	00:03:00	20%	OFF
5	3	Eosin	00:03:30	20%	ON
6	W*	Wash Station	00:01:45	20%	OFF
7	2	Isopropanol 70 %	00:01:30	50%	ON
8	1	Isopropanol 96 %	00:01:30	**	ON
9	9	Isopropanol 100 %	00:01:30	**	ON
10	21	Xylol	00:02:30	**	ON
11	E*	End Station	--:--:--		



Kopie Rav



Universität Regensburg

Institut für Pathologie  
Prof. Dr. M. Evert



Universitätsklinikum  
Regensburg

HE - Automat

Rezepturhandbuch

## 2. Reagenzienherstellung

2.1 Hämalaun gebrauchsfertig

2.2 Eosin (selbstangesetzt)

Arbeits-schritt	Reagenz	Menge	Bemerkungen
1.	Eosin G Pulver	10 g	
2.	50 % Isopropanol	1 l	lösen
3.	100 % Essigsäure	1 ml	zugeben

Alternativ:

gebrauchsfertig als Eosin-G-Lsg mit 0,5 % Alkohol; allerdings vor der Färbung noch mit 2 Tropfen 100% Essigsäure pro 100 ml versetzen



2.3 0,22 %-iger HCl-Alkohol

Arbeits-schritt	Reagenz	Menge	Bemerkungen
1.	70 % Isopropanol	1000 ml	
2.	37 % HCl, rauchend	6 ml	

2.4 Gemisch aus Aqua dest. / 0,22 %-iger HCl-Alkohol – täglich frisch ansetzen


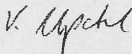
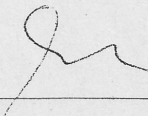
Arbeits-schritt	Reagenz	Menge	Bemerkungen
1.	Aqua dest.	425 ml	
2.	0,22 % HCl-Alkohol	175 ml	

Kov Kopie

 Universität Regensburg	<b>Institut für Pathologie</b> Prof. Dr. M. Evert	 Universitätsklinikum Regensburg
<b>HE - Automat</b>		Rezepturhandbuch

**3. Ergebnis:**

Kerne	blau
übriges Material	rosa

Erstellt: M. Wolf	Datum: 30.3.17	Unterschrift: 
Geprüft: Dr. K. Utpatel	Datum: 15.3.17	Unterschrift: 
Freigegeben: Prof. Dr. M. Evert	Datum: 12.3.17	Unterschrift: 

## Abbildungsverzeichnis

Bei Abbildungen ohne entsprechende Fußnote in der fortlaufenden Arbeit handelt es sich um eigene Aufnahmen oder Darstellungen.

Abbildung 1: Jährliche Inzidenz der Gallengangatresie in Taiwan von 1997 bis 2011 aus Lin et al. [5] .....	5
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Klassifizierung der extrahepatischen Gallengangatresie aus Hartley et al. [8].....	6
Abbildung 3: Embryonale Entwicklung der Gallengänge aus Gordillo et al. [11] .....	9
Abbildung 4: Triangular Cord Sign (ab: Länge, cd: Breite) und Portalvene (*) aus Choi et al. [42].....	16
Abbildung 5: links ERCP Bild physiologischer Gallenwege (a: extrahepatische Gallenwege, b: Gallenblase), rechts ERCP Bild bei Gallengangatresie mit sichtbarer Gallenblase und fehlender Kontrastierung der extrahepatischen Gallenwege, beide aus Shteyer et al. [45].....	17
Abbildung 6: Intraoperative Cholangiographie (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53]) .....	20
Abbildung 7: Leberpforte nach Durchtrennung von D. cysticus und D. Choledochus (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53]).....	21
Abbildung 8: Hepatoportoenterostomie (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53]).....	22
Abbildung 9: Dünndarmanastomose nach Y-Roux (aus Puri P, Höllwarth ME. Pediatric Surgery. [53]) .....	22
Abbildung 10: links oben Rosettenformationen, rechts unten blasige, weißliche Hepatozyten („feathery degeneration“).....	25
Abbildung 11: physiologische Verteilung des CK 7 (braun) in den Gallengansepithelien der Portalfelder .....	26
Abbildung 12: deutlich vermehrtes Vorkommen des CK 7 (braun) innerhalb der Portalfelder und der Leberläppchen .....	27
Abbildung 13: a) Grad 1, Expression in proliferierten Gallengängen in den Portalfeldern. b) Grad 2, Expression in periportalen Hepatozyten. c) Grad 3, Expression in intralobulären Hepatozyten. d) Grad 4, Diffuse Expression in der Mehrzahl der Hepatozyten aus Yabushita et al. [63].....	27
Abbildung 14: mehrkernige Riesenzellen .....	28
Abbildung 15: Ishak-Score aus Germani et al. [66] .....	29
Abbildung 16: Färbung mit Pikro-Siriusrot .....	37
Abbildung 17: CK-7 Expression .....	38
Abbildung 18: links oben mehrkernige Riesenzellen, rechts unten Rosettenformationen (mit Pfeilen markiert).....	39
Abbildung 19: Altersverteilung zum Zeitpunkt der Kasai-Operation (x-Achse: Patientenfallnummer, y-Achse: Alter in Tagen) .....	42
Abbildung 20: Boxplot über den Zusammenhang von Alter bei Kasai-Operation und Transplantationsstatus.....	43
Abbildung 21: Zeitverlauf zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation für jeden einzelnen Studienpatienten .....	44

Abbildung 22: Überlebensverlauf mit eigener Leber mit Endpunkt Transplantation ..... 45

Abbildung 23: Konfiguration der Gallenblase bei der präoperativen Sonographie des Abdomens..... 47

Abbildung 24: Werte der GOT aller Patienten vor der Operation nach Kasai..... 48

Abbildung 25: Werte der GPT aller Patienten vor der Operation nach Kasai..... 49

Abbildung 26: Boxplot über die Werte der  $\gamma$ -GT vor Kasai-Operation und vor Lebertransplantation ..... 50

Abbildung 27: Boxplot über den Zusammenhang von GOT-Werten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und Transplantationsstatus..... 51

Abbildung 28: Boxplot über den Zusammenhang von GPT-Werten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und Transplantationsstatus..... 51

Abbildung 29: Boxplot über den Zusammenhang von GOT-Werten drei Monate nach Kasai-Operation und Transplantationsstatus..... 52

Abbildung 30: Boxplot über den Zusammenhang von GPT-Werten drei Monate nach Kasai-Operation und Transplantationsstatus..... 52

Abbildung 31: Zusammenhang zwischen Bilirubinspiegel vor Lebertransplantation und Abstand zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation ..... 54

Abbildung 32: Zusammenhang zwischen Bilirubinspiegel vor Kasai-Operation und postoperativem Bilirubin-Abfall ..... 55

Abbildung 33: Bilirubinverlauf der nicht transplantierten Patienten..... 57

Abbildung 34: Bilirubinverlauf der transplantierten Patienten ..... 57

Abbildung 35: Zusammenhang zwischen Alter bei Kasai-Operation und den Werten der alk. Phosphatase ..... 58

Abbildung 36: von oben nach unten Ishak-Score 2 bis 6, von Ishak-Score 1 kein geeignetes Bildmaterial vorhanden ..... 59

Abbildung 37: Ishak-Score zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ..... 60

Abbildung 38: Ishak-Score zum Zeitpunkt der Lebertransplantation ..... 61

Abbildung 39: links oben CK 7 Score 0, rechts oben CK 7 Score 1, links unten CK 7 Score 2, rechts unten CK 7 Score 3 ..... 62

Abbildung 40: CK-7 Werte zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ..... 63

Abbildung 41: CK-7 Werte zum Zeitpunkt der Lebertransplantation..... 63

Abbildung 42: Boxplot über den Zusammenhang zwischen CK-7 und Bilirubin bei Lebertransplantation ..... 64

Abbildung 43: Vorkommen von Riesenzellen bei Kasai-Operation (links) und Lebertransplantation (rechts)..... 64

Abbildung 44: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Riesenzellen und GPT-Werten zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ..... 65

Abbildung 45: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Riesenzellen und GPT-Werten bei Lebertransplantation..... 66

Abbildung 46: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Rosettenformationen und GOT zum Zeitpunkt der Kasai-Operation ..... 67

Abbildung 47: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Rosettenformationen und GOT-Werten bei Lebertransplantation..... 67

Abbildung 48: Boxplot über den Zusammenhang zwischen Rosettenformationen und Bilirubinspiegel zum Zeitpunkt der Kasai-Operation..... 68

Abbildung 49: Vorkommen von Bile Plugs zum Zeitpunkt der Kasai-Operation (links) und bei Lebertransplantation (rechts) ..... 69

Abbildung 50: Boxplot über den Zusammenhang von GOT (blau) und GPT (grün) und dem Vorkommen von Bile Plugs bei Lebertransplantation .....	70
Abbildung 51: Boxplot über den Zusammenhang von Bile Plugs und Bilirubinspiegeln bei Lebertransplantation .....	70
Abbildung 52: Morphologie der Hepatozyten im Zusammenhang mit dem Abstand zwischen Kasai-Operation und Lebertransplantation .....	71
Abbildung 53: Morphologie der Hepatozyten im Zusammenhang mit Bilirubinspiegeln bei Lebertransplantation .....	72
Abbildung 54: PELD-Scores zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und bei Lebertransplantation .....	73
Abbildung 55: Boxplot über den Zusammenhang von PELD-Scores vor Kasai-Operation und Transplantationsstatus.....	75
Abbildung 56: Boxplot über den Zusammenhang von PELD-Scores drei Monate nach Kasai-Operation und Transplantationsstatus.....	75

## Tabellenverzeichnis

Alle hier aufgeführten Tabellen sind eigene Darstellungen.

Tabelle 1: Ätiologie der Gallengangatresie .....	8
Tabelle 2: Diagnostischer Pfad im KH St. Hedwig, Regensburg .....	15
Tabelle 3: Vorgehen nach ERCP.....	18
Tabelle 4: in der Studie erfasste Laborparameter.....	35
Tabelle 5: Kategorien der Auswertung der Abdomensonographie .....	36
Tabelle 6: Aufbau des Untersuchungskollektivs .....	41
Tabelle 7: sonographische Beurteilung des Leberparenchyms (Anzahl).....	46
Tabelle 8: sonographische Beurteilung der Gallenblase .....	47
Tabelle 9: De-Ritis-Quotient bei Kasai-Operation und drei Monate postoperativ (Median, (Range)).....	53
Tabelle 10: Verlauf des Bilirubins postoperativ, negative Werte stehen für einen Anstieg des Bilirubins .....	57
Tabelle 11: PELD-Scores aller Patienten bei Kasai-Operation und Lebertransplantation .....	73
Tabelle 12: PELD-Scores zum Zeitpunkt der Kasai-Operation und drei Monate postoperativ .....	76
Tabelle 13: Übersicht demographischer und zeitlicher Daten .....	76
Tabelle 14: Tabellarischer Vergleich der Daten transplantiertes und nicht transplantiertes Patienten (signifikante Korrelationen mit einem $p < 0,05$ mit * markiert, sehr signifikante und hochsignifikante Korrelationen mit einem $p < 0,01$ mit ** markiert) .	77

## Literaturverzeichnis

---

- 1** Karrer FM, Lilly JR, Stewart BA, Hall RJ. Biliary atresia registry, 1976 to 1989. *J Pediatr Surg.* 1990 Oct;25(10):1076–80; discussion 1081.
- 2** Hackl C. Current developments in pediatric liver transplantation. *World Journal of Hepatology.* 2015;7(11):1509.
- 3** Balistreri WF, Grand R, Hoofnagle JH, Suchy FJ, Ryckman FC, Perlmutter DH, et al. Biliary atresia: current concepts and research directions. Summary of a symposium. *Hepatology.* 1996 Jun;23(6):1682–92.
- 4** Chardot C. Biliary atresia. *Orphanet J Rare Dis.* 2006 Jul;28(1).
- 5** Lin J-S, Chen SC-C, Lu C-L, Lee H-C, Yeung C-Y, Chan W-T. Reduction of the ages at diagnosis and operation of biliary atresia in Taiwan: A 15-year population-based cohort study. *World J Gastroenterol.* 2015 Dec 14;21(46):13080–6.
- 6** Alagille D. Extrahepatic Biliary Atresia. *Hepatology.* 1984 Jan;4(S1):7S – 10S.
- 7** Wildhaber BE. Biliary Atresia: 50 Years after the First Kasai. *ISRN Surgery.* 2012;2012:1–15.
- 8** Hartley JL, Davenport M, Kelly DA. Biliary atresia. *The Lancet.* 2009 Nov;374(9702):1704–13.
- 9** Werlin SL. Extrahepatic biliary atresia in one of twins. *Acta Paediatr Scand.* 1981 Nov;70(6):943–4.
- 10** Mieli-Vergani G, Vergani D. Biliary atresia. *Seminars in Immunopathology.* 2009;31(3):371–81.
- 11** Gordillo M, Evans T, Gouon-Evans V. Orchestrating liver development. *Development.* 2015 Jun 15;142(12):2094–108.
- 12** Tan CE, Driver M, Howard ER, Moscoso GJ. Extrahepatic biliary atresia: a first-trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry. *J Pediatr Surg.* 1994 Jun;29(6):808–14.
- 13** Suskind DL, Rosenthal P, Heyman MB, Kong D, Magrane G, Baxter-Lowe L-A, et al. Maternal microchimerism in the livers of patients with biliary atresia. *BMC Gastroenterol.* 2004 Jul 31;4:14.

- 
- 14** Hayashida M, Nishimoto Y, Matsuura T, Takahashi Y, Kohashi K, Souzaki R, et al. The evidence of maternal microchimerism in biliary atresia using fluorescent in situ hybridization. *J Pediatr Surg.* 2007 Dec;42(12):2097–101.
- 15** Kobayashi H, Tamatani T, Tamura T, Kusafuka J, Yamataka A, Lane GJ, et al. Maternal microchimerism in biliary atresia. *J Pediatr Surg.* 2007 Jun;42(6):987–91; discussion 991.
- 16** Ho CW, Shioda K, Shirasaki K, Takahashi S, Tokimatsu S, Maeda K. The pathogenesis of biliary atresia: a morphological study of the hepatobiliary system and the hepatic artery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1993 Jan;16(1):53–60.
- 17** Schreiber RA, Kleinman RE. Genetics, immunology, and biliary atresia: an opening or a diversion? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1993 Feb;16(2):111–3.
- 18** Landing BH. Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst--the concept of infantile obstructive cholangiopathy. *Prog Pediatr Surg.* 1974;6:113–39.
- 19** Tarr PI, Haas JE, Christie DL. Biliary atresia, cytomegalovirus, and age at referral. *Pediatrics.* 1996 Jun;97(6 Pt 1):828–31.
- 20** Chang MH, Huang HH, Huang ES, Kao CL, Hsu HY, Lee CY. Polymerase chain reaction to detect human cytomegalovirus in livers of infants with neonatal hepatitis. *Gastroenterology.* 1992 Sep;103(3):1022–5.
- 21** Fischler B, Ehrnst A, Forsgren M, Orvell C, Nemeth A. The viral association of neonatal cholestasis in Sweden: a possible link between cytomegalovirus infection and extrahepatic biliary atresia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1998 Jul;27(1):57–64.
- 22** Bates MD, Bucuvalas JC, Alonso MH, Ryckman FC. Biliary atresia: pathogenesis and treatment. *Semin Liver Dis.* 1998;18(3):281–93.
- 23** Glaser JH, Balistreri WF, Morecki R. Role of reovirus type 3 in persistent infantile cholestasis. *J Pediatr.* 1984 Dec;105(6):912–5.
- 24** Morecki R, Glaser JH, Johnson AB, Kress Y. Detection of reovirus type 3 in the porta hepatis of an infant with extrahepatic biliary atresia: ultrastructural and immunocytochemical study. *Hepatology.* 1984 Dec;4(6):1137–42.
- 25** Brown WR, Sokol RJ, Levin MJ, Silverman A, Tamaru T, Lilly JR, et al. Lack of correlation between infection with reovirus 3 and extrahepatic biliary atresia or neonatal hepatitis. *J Pediatr.* 1988 Oct;113(4):670–6.
- 26** Saito T, Shinozaki K, Matsunaga T, Ogawa T, Etoh T, Muramatsu T, et al. Lack of evidence for reovirus infection in tissues from patients with biliary atresia and congenital dilatation of the bile duct. *J Hepatol.* 2004 Feb;40(2):203–11.

- 
- 27** Asai A, Miethke A, Bezerra JA. Pathogenesis of biliary atresia: defining biology to understand clinical phenotypes. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2015 May 26;12(6):342–52.
- 28** Gilger MA, Matson DO, Conner ME, Rosenblatt HM, Finegold MJ, Estes MK. Extraintestinal rotavirus infections in children with immunodeficiency. *J Pediatr*. 1992 Jun;120(6):912–7.
- 29** Landing BH. Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst--the concept of infantile obstructive cholangiopathy. *Prog Pediatr Surg*. 1974;6:113–39.
- 30** Riepenhoff-Talty M, Gouvea V, Evans MJ, Svensson L, Hoffenberg E, Sokol RJ, et al. Detection of group C rotavirus in infants with extrahepatic biliary atresia. *J Infect Dis*. 1996 Jul;174(1):8–15.
- 31** Clemente MG, Patton JT, Yolken R, Whittington PF, Parashar UD, Jiang B, et al. Prevalence of groups A and C rotavirus antibodies in infants with biliary atresia and cholestatic controls. *J Pediatr*. 2015 Jan;166(1):79–84.
- 32** Domiati-Saad R, Dawson DB, Margraf LR, Finegold MJ, Weinberg AG, Rogers BB. Cytomegalovirus and human herpesvirus 6, but not human papillomavirus, are present in neonatal giant cell hepatitis and extrahepatic biliary atresia. *Pediatr Dev Pathol*. 2000 Aug;3(4):367–73.
- 33** Rauschenfels S, Krassmann M, Al-Masri AN, Verhagen W, Leonhardt J, Kuebler JF, et al. Incidence of hepatotropic viruses in biliary atresia. *European Journal of Pediatrics*. 2009 Apr;168(4):469–76.
- 34** Fjaer RB, Bruu A-L, Nordbø SA. Extrahepatic bile duct atresia and viral involvement. *Pediatr Transplant*. 2005 Feb;9(1):68–73.
- 35** Bezerra JA, Tiao G, Ryckman FC, Alonso M, Sabla GE, Shneider B, et al. Genetic induction of proinflammatory immunity in children with biliary atresia. *Lancet*. 2002 Nov 23;360(9346):1653–9.
- 36** Shivakumar P, Sabla G, Mohanty S, McNeal M, Ward R, Stringer K, et al. Effector role of neonatal hepatic CD8+ lymphocytes in epithelial injury and autoimmunity in experimental biliary atresia. *Gastroenterology*. 2007 Jul;133(1):268–77.
- 37** Shivakumar P, Sabla GE, Whittington P, Chougnet CA, Bezerra JA. Neonatal NK cells target the mouse duct epithelium via Nkg2d and drive tissue-specific injury in experimental biliary atresia. *J Clin Invest*. 2009 Aug;119(8):2281–90.
- 38** Guo C, Zhu J, Pu C-L, Deng Y-H, Zhang M-M. Combinatory effects of hepatic CD8+ and NK lymphocytes in bile duct injury from biliary atresia. *Pediatr Res*. 2012 Jun;71(6):638–44.



---

**39** Sakamoto N, Muraji T, Ohtani H, Masumoto K. The accumulation of regulatory T cells in the hepatic hilar lymph nodes in biliary atresia. *Surg Today*. 2017 Mar 14;

**40** Lages CS, Simmons J, Chougnnet CA, Miethke AG. Regulatory T cells control the CD8 adaptive immune response at the time of ductal obstruction in experimental biliary atresia. *Hepatology*. 2012 Jul;56(1):219–27.

**41** Arbeitsgesellschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften. S2k-Leitlinie 024/007: Hyperbilirubinämie des Neugeborenen – Diagnostik und Therapie. 08/2015. Zitiert am 12.07.16. URL: [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/024-007I\\_S2k\\_Hyperbilirubinaemie\\_Neugeborenen\\_Diagnostik\\_Therapie\\_2015-08.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/024-007I_S2k_Hyperbilirubinaemie_Neugeborenen_Diagnostik_Therapie_2015-08.pdf)

**42** Choi SO, Park WH, Lee HJ, Woo SK. “Triangular cord”: a sonographic finding applicable in the diagnosis of biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 1996 Mar;31(3):363–6.

**43** Zhou L, Shan Q, Tian W, Wang Z, Liang J, Xie X. Ultrasound for the Diagnosis of Biliary Atresia: A Meta-Analysis. *AJR Am J Roentgenol*. 2016 May;206(5):W73–82.

**44** Guelrud M, Jaen D, Mendoza S, Plaz J, Torres P. ERCP in the diagnosis of extrahepatic biliary atresia. *Gastrointest Endosc*. 1991 Oct;37(5):522–6.

**45** Shteyer E, Wengrower D, Benuri-Silbiger I, Gozal D, Wilschanski M, Goldin E. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography in neonatal cholestasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012 Aug;55(2):142–5.

**46** Superina R, Magee JC, Brandt ML, Healey PJ, Tiao G, Ryckman F, et al. The anatomic pattern of biliary atresia identified at time of Kasai hepatoportoenterostomy and early postoperative clearance of jaundice are significant predictors of transplant-free survival. *Ann Surg*. 2011 Oct;254(4):577–85.

**47** Ohi R. Surgical treatment of biliary atresia in the liver transplantation era. *Surg Today*. 1998;28(12):1229–32.

**48** Hitch DC, Shikes RH, Lilly JR. Determinants of survival after Kasai’s operation for biliary atresia using actuarial analysis. *J Pediatr Surg*. 1979 Jun;14(3):310–4.

**49** Mieli-Vergani G, Howard ER, Portman B, Mowat AP. Late referral for biliary atresia--missed opportunities for effective surgery. *Lancet*. 1989 Feb 25;1(8635):421–3.

**50** Chardot C, Carton M, Spire-Bendelac N, Le Pommelet C, Golmard JL, Auvert B. Prognosis of biliary atresia in the era of liver transplantation: French national study from 1986 to 1996. *Hepatology*. 1999 Sep;30(3):606–11.

**51** Gallo A, Esquivel CO. Current options for management of biliary atresia. *Pediatric Transplantation*. 2013 Mar;17(2):95–8.

**52** Garcia AV, Cowles RA, Kato T, Hardy MA. Morio Kasai: a remarkable impact beyond the Kasai procedure. *Journal of Pediatric Surgery*. 2012 May;47(5):1023–7.

- 
- 53** Puri P, Höllwarth ME, editors. *Pediatric Surgery* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2006 [cited 2019 Jan 11]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/3-540-30258-1>
- 54** Kasai M. Treatment of biliary atresia with special reference to hepatic portoenterostomy and its modifications. *Prog Pediatr Surg*. 1974;6:5–52.
- 55** Lacher M, Kuebler JF, Dingemann J, Ure BM. Minimal invasive surgery in the newborn: current status and evidence. *Semin Pediatr Surg*. 2014 Oct;23(5):249–56.
- 56** Madadi-Sanjani O, Petersen C, Ure B. Minimally Invasive Hepatobiliary Surgery. *Clin Perinatol*. 2017;44(4):805–18.
- 57** Ure BM, Kuebler JF, Schukfeh N, Engelmann C, Dingemann J, Petersen C. Survival with the native liver after laparoscopic versus conventional kasai portoenterostomy in infants with biliary atresia: a prospective trial. *Ann Surg*. 2011 Apr;253(4):826–30.
- 58** Hussain MH, Alizai N, Patel B. Outcomes of laparoscopic Kasai portoenterostomy for biliary atresia: A systematic review. *J Pediatr Surg*. 2017 Feb;52(2):264–7.
- 59** Crawford JM. Basic mechanisms in hepatology. In: MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, editors. *MacSween's pathology of the liver: [includes CD-ROM]*. 5. ed. Philadelphia, Pa: Elsevier, Churchill Livingstone; 2007:75-117
- 60** Portman BC, Nakanuma Y. Diseases of the bile ducts. In: MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, editors. *MacSween's pathology of the liver: [includes CD-ROM]*. 5. ed. Philadelphia, Pa: Elsevier, Churchill Livingstone; 2007:517-81
- 61** Roskams T, Desmet VJ, Verslype C. Development, structure and function of the liver. In: MacSween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ferrell LD, editors. *MacSween's pathology of the liver: [includes CD-ROM]*. 5. ed. Philadelphia, Pa: Elsevier, Churchill Livingstone; 2007:2-73
- 62** Suriawinata AA, Thung SN. *Liver pathology: an atlas and concise guide*. New York: Demos Medical; 2011:9
- 63** Yabushita K, Yamamoto K, Ibuki N, Okano N, Matsumura S, Okamoto R, et al. Aberrant expression of cytokeratin 7 as a histological marker of progression in primary biliary cirrhosis. *Liver*. 2001 Feb;21(1):50–5.
- 64** Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981 Oct;1(5):431–5.
- 65** Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*. 1995 Jun;22(6):696–9.

- 
- 66** Germani G, Burroughs AK, Dhillon AP. The relationship between liver disease stage and liver fibrosis: a tangled web. *Histopathology*. 2010 Dec;57(6):773–84.
- 67** Lally KP, Kanegaye J, Matsumura M, Rosenthal P, Sinatra F, Atkinson JB. Perioperative factors affecting the outcome following repair of biliary atresia. *Pediatrics*. 1989 May;83(5):723–6.
- 68** Nio M, Ohi R, Miyano T, Saeki M, Shiraki K, Tanaka K, et al. Five- and 10-year survival rates after surgery for biliary atresia: a report from the Japanese Biliary Atresia Registry. *J Pediatr Surg*. 2003 Jul;38(7):997–1000.
- 69** Pape L, Olsson K, Petersen C, von Wasilewski R, Melter M. Prognostic value of computerized quantification of liver fibrosis in children with biliary atresia. *Liver Transpl*. 2009 Aug;15(8):876–82.
- 70** Shneider BL, Magee JC, Karpen SJ, Rand EB, Narkewicz MR, Bass LM, et al. Total Serum Bilirubin within 3 Months of Hepatopertoenterostomy Predicts Short-Term Outcomes in Biliary Atresia. *J Pediatr*. 2016 Mar;170:211–7.e1–2.
- 71** Utterson EC, Shepherd RW, Sokol RJ, Bucuvalas J, Magee JC, McDiarmid SV, et al. Biliary atresia: clinical profiles, risk factors, and outcomes of 755 patients listed for liver transplantation. *J Pediatr*. 2005 Aug;147(2):180–5.
- 72** Chusilp S, Sookpotarom P, Tepmalai K, Rajatapiti P, Chongsrisawat V, Poovorawan Y, et al. Prognostic values of serum bilirubin at 7th day post-Kasai for survival with native livers in patients with biliary atresia. *Pediatr Surg Int*. 2016 Oct;32(10):927–31.
- 73** Goda T, Kawahara H, Kubota A, Hirano K, Umeda S, Tani G, et al. The most reliable early predictors of outcome in patients with biliary atresia after Kasai's operation. *J Pediatr Surg*. 2013 Dec;48(12):2373–7.
- 74** De Ritis F, Coltorti M, Giusti G. An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis; the transaminase serum activities. *Clin Chim Acta*. 1957 Feb;2(1):70–4.
- 75** Kasai M, Suzuki H, Ohashi E, Ohi R, Chiba T, Okamoto A. Technique and results of operative management of biliary atresia. *World J Surg*. 1978 Sep;2(5):571–9.
- 76** Karrer FM, Lilly JR. Corticosteroid therapy in biliary atresia. *J Pediatr Surg*. 1985 Dec;20(6):693–5.
- 77** Dong R, Song Z, Chen G, Zheng S, Xiao X-M. Improved outcome of biliary atresia with postoperative high-dose steroid. *Gastroenterol Res Pract*. 2013;2013:902431.
- 78** Petersen C, Harder D, Melter M, Becker T, Wasielewski RV, Leonhardt J, et al. Postoperative high-dose steroids do not improve mid-term survival with native liver in biliary atresia. *Am J Gastroenterol*. 2008 Mar;103(3):712–9.

- 
- 79** Tyraskis A, Parsons C, Davenport M. Glucocorticosteroids for infants with biliary atresia following Kasai portoenterostomy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 May 14;5:CD008735.
- 80** Wiesner RH, McDiarmid SV, Kamath PS, Edwards EB, Malinchoc M, Kremers WK, et al. MELD and PELD: application of survival models to liver allocation. *Liver Transpl.* 2001 Jul;7(7):567–80.
- 81** McDiarmid SV, Anand R, Lindblad AS, Principal Investigators and Institutions of the Studies of Pediatric Liver Transplantation (SPLIT) Research Group. Development of a pediatric end-stage liver disease score to predict poor outcome in children awaiting liver transplantation. *Transplantation.* 2002 Jul 27;74(2):173–81.
- 82** Shinkai M, Ohhama Y, Take H, Fukuzato Y, Fujita S, Nishi T. Evaluation of the PELD risk score as a severity index of biliary atresia. *J Pediatr Surg.* 2003 Jul;38(7):1001–4.
- 83** Rhu J, Jung S-M, Choe YH, Seo J-M, Lee S-K. PELD score and age as a prognostic index of biliary atresia patients undergoing Kasai portoenterostomy. *Pediatr Surg Int.* 2012 Apr;28(4):385–91.
- 84** Khanna K, Bhatnagar V, Agarwala S, Srinivas M, Gupta SD. Ratio of Preoperative and Postoperative Serum Bilirubin Levels Predicts Early Outcome Following Biliary Atresia Surgery. *J Indian Assoc Pediatr Surg.* 2018 Jun;23(2):81–6.
- 85** Muraji T, Nio M, Ohhama Y, Hashimoto T, Iwanaka T, Takamatsu H, et al. Postoperative corticosteroid therapy for bile drainage in biliary atresia--a nationwide survey. *J Pediatr Surg.* 2004 Dec;39(12):1803–5.
- 86** Davenport M, Parsons C, Tizzard S, Hadzic N. Steroids in biliary atresia: single surgeon, single centre, prospective study. *J Hepatol.* 2013 Nov;59(5):1054–8.
- 87** Pape L, Olsson K, Petersen C, von Wasilewski R, Melter M. Prognostic value of computerized quantification of liver fibrosis in children with biliary atresia. *Liver Transpl.* 2009 Aug;15(8):876–82.

## Danksagung

Zuallererst gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Hans J. Schlitt für die Möglichkeit, meine Promotion an seiner Klinik für Chirurgie durchführen zu können. Herrn Prof. Dr. Michael Melter danke ich dafür, meine Doktorarbeit als Zweitgutachter zu betreuen.

Ebenso danke ich Herrn PD Dr. Christian Knorr für die Erarbeitung und Bereitstellung des Themas und das wertvolle und konstruktive Feedback im Verlauf der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Dr. Oliver Loose danke ich von ganzem Herzen für sein großes Engagement für das Projekt, die Unterstützung bei sämtlichen aufgetretenen Fragen, die stets aufbauenden Worte und die Vermittlung wichtiger Kenntnisse des wissenschaftlichen Arbeitens.

Mein Dank gilt ebenso Frau Dr. Kirsten Utpatel und Frau Dr. Birgit Knoppke für die hervorragende fachliche Betreuung während meiner Arbeit am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Regensburg und an der KUNO Kinderklinik des Universitätsklinikums Regensburg.

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Lisa Hofstetter  
geboren am 18.06.1992 in Regensburg

## Beruflicher Werdegang

seit 02/2019 Assistenzärztin der Abteilung für Allgemein-, Viszeral- und Gefäßchirurgie am Krankenhaus St. Barbara Schwandorf

seit 06/2016 Doktorandin an der Klinik für Kinderchirurgie und Kinderorthopädie, Krankenhaus St. Hedwig Regensburg

## Ausbildung

11/2018 Erlangen der Ärztlichen Approbation

10/2012-11/2018 Studium der Humanmedizin an der Universität Regensburg

10/2011-09/2012 Studium der Chemie (B. Sc.) an der Universität Regensburg

09/2002-05/2011 Werner-von-Siemens-Gymnasium Regensburg,  
Allgemeine Hochschulreife

## Praktisches Jahr

07/2018-10/2018 Innere Medizin, Universitätsklinikum Regensburg

03/2018-06/2018 Chirurgie, Caritas Krankenhaus St. Josef Regensburg

11/2017-03/2018 Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, Klinikum St. Elisabeth Straubing

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation steht. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Lisa Hofstetter

Regensburg, Mai 2020