

Tanja Baumann  
Dr. med.

## **Die Bedeutung des Proliferationsantigens Ki-67 für die Diagnose, Differentialdiagnose und Graduierung der akuten Abstoßungsreaktion nach Lebertransplantation**

Geboren am: 19.04.74

Reifeprüfung am: 19.05.93 in Ettlingen

Studiengang der Fachrichtung: Humanmedizin vom WS 93/94 bis SS99

Physikum am: 07.09.95 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in: Heidelberg

Praktisches Jahr in: Strasbourg, Heidelberg

Staatsexamen am: 29.11.99 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie

Doktorvater: Professor Dr. med. Dr. h.c. H. F. Otto

Wir haben uns im Rahmen dieser Arbeit damit beschäftigt, inwiefern sich mit Hilfe des Proliferationsmarkers Ki-67 Aussagen zu Diagnose, Klassifizierung und Prognose der akuten Lebertransplantatabstoßung in Hinblick auf effiziente Therapie optimieren lassen. Hierzu wurde Ki-67 immunhistochemisch im portalen Infiltrat in Biopsien lebertransplantierte Patienten mit gesicherter akuter Abstoßungsreaktion (n=119), mit gesicherter postoperativer Hepatitis-B-Reinfektion (n=43) und mit unauffälligem Befund hinsichtlich akuter Abstoßungsreaktion und/oder Infektion (n=45) nachgewiesen. In der Vergleichsgruppe in Biopsien nicht lebertransplantierte Patienten wurden das portale Infiltrat serologisch gesicherter chronischer Hepatitiden B (n=9) und C (n=190) auf Ki-67 positive Zellen untersucht. In 12 Fällen mit akuter Abstoßungsreaktion wurde eine Doppelmarkierung von Ki-67 und UCHL1 (T-Lymphozytenmarker) gemacht. Die Auswertung erfolgte für alle Biopsien semiquantitativ und für die Biopsien

lebertransplantierten Patienten zusätzlich durch ein genaueres Verfahren quantitativ. In 40 Biopsien mit akuter Abstoßungsreaktion konnte eine klinische Einteilung in steroidrefraktär und steroidsensitiv vorgenommen werden. Histologisch wurden die akuten Abstoßungsreaktionen nach dem Banff-Konsensusdokument, die Hepatitiden mit dem Hepatitis Aktivitäts Index nach Ludwig und Batts graduiert.

Nach unserer Auffassung ist die Klassifizierung und Graduierung des Banff-Konsensusdokuments die derzeit beste Möglichkeit die akute Lebertransplantatabstoßung histologisch zu klassifizieren. Unsere Daten zeigen, daß die im Banff-Konsensusdokument vorgeschlagene Globaleinschätzung des Rejektionsgrades und die semiquantitative Detailauswertung (RAI) mit einem hohen Korrelationsfaktor von  $R=0,874$  ( $p=0,01$ ) korrelieren.

Experimentell konnten wir zeigen, daß sich in der transplantierten Leber Ki-67 positive („aktivierte“) Zellen im portalen Entzündungsinfiltrat finden und zwar signifikant mehr als im portalen Entzündungsinfiltrat nicht transplantierten Lebern mit chronischer Hepatitis B und C. Diese Ki-67 positiven Zellen entsprechen z.T. T-Zellen z.T. non-T-Zellen. In den 12 Biopsien mit akuter Abstoßungsreaktion, die mittels Doppelmarkierung untersucht wurden, zeigte das 53,6% der infiltrierenden Zellen UCHL1 positiv d.h. T-Lymphozyten und 65,9% der Ki-67 positiven Zellen T-Lymphozyten waren. Allerdings lag der Anteil Ki-67 positiver T-Lymphozyten an allen infiltrierenden Zellen nur bei 25,1%. Somit weist Ki-67 im Portalfeld, im Falle der akuten Lebertransplantatabstoßungsreaktion, immunologisch kompetente Zellen, nämlich aktivierte (proliferierende) T-Lymphozyten nach. Daraus läßt sich schlußfolgern, daß der Nachweis aktivierter T-Lymphozyten mit Hilfe des Proliferationsmarkers Ki-67 zwar gelingt, aber im Kontext nur begrenzt verwertbar ist. Interessanterweise zeigte sich, je höher der Grad der akuten Lebertransplantatabstoßung bzw. der rejection activity index (RAI), umso mehr proliferierende Zellen lassen sich im Portalfeld nachweisen. Hierbei korreliert die Globaleinschätzung des Rejektionsgrades bzw. der RAI mit der Quantität der Ki-67 positiven Zellen mit  $R=0,39$  ( $p=0,01$ ) bzw.  $R=0,38$

( $p=0,01$ ). Leider reicht dieser Korrelationsfaktor nicht aus, um proliferierende Zellen im Portalfeld als zusätzliches Kriterium der akuten Lebertransplantatabstoßung in das Banff-Konsensusdokument mitaufzunehmen. Mit Hilfe von retrospektiven Daten haben wir die Quantität der Ki-67 positiven Zellen im Portalfeld mit Steroidsensitivität bzw. Steroidrefraktarität korreliert. Hier zeigt sich, daß in steroidrefraktären Rejektionen signifikant mehr Ki-67 nachweisbar ist als in steroidsensitiven Rejektionen. Insofern haben proliferierende Zellen prognostische Relevanz, die sich klinisch insofern auswirken könnte, daß man vorab bestimmen könnte, wer von einer zusätzlichen immunsuppressiven Therapie profitieren könnte.

Die Tatsache, daß Ki-67 in Lebern mit akuter Rejektion im Vergleich zu Hepatitis-B-Reinfektion, chronischer Hepatitis-B-Infektion, chronischer Hepatitis-C-Infektion signifikant mehr exprimiert wird lassen proliferierende Zellen im portalen Infiltrat als differentialdiagnostisches Kriterium im Rahmen einer sogenannten Overlap-Reaktion interessant werden.

Zusammenfassend sahen wir in dem Proliferationsmarker Ki-67 einen geeigneten „Aktivierungsmarker“, um die bei einer akuten Lebertransplantatabstoßung aktivierten proliferierenden T-Lymphozyten im Portalfeld nachzuweisen.

Ki-67 als T-Lymphozytenaktivitätsmarker, dem in der Transplantationsmedizin insofern entscheidende Bedeutung beigemessen werden muß, als daß proliferierende Zellen einen wichtigen Parameter in der Differentialdiagnose, Prognose und eventuellem Bedarf an zusätzlicher immunsuppressiver Therapie darstellen. Leider liefert Ki-67 bezüglich Diagnose und Graduierung der akuten Lebertransplantatabstoßung keinen entscheidenden zusätzlichen Beitrag.