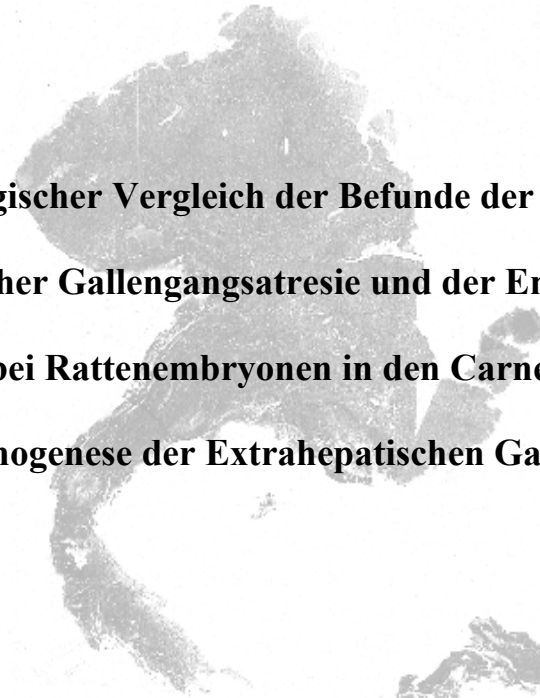


**Aus der Universitätsklinik für Kinderheilkunde
und Jugendmedizin Tübingen**

Abteilung Kinderchirurgie

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. J. Fuchs



**Histomorphologischer Vergleich der Befunde der Leberpforte bei
Extrahepatischer Gallengangsatresie und der Entwicklung des
Gallengangsystems bei Rattenembryonen in den Carnegie Stadien 20- 23 als
Beitrag zur Pathogenese der Extrahepatischen Gallengangsatresie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard- Karls- Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Cornelia Bachmann
aus
Tübingen

2004

Dekan: Prof. Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Prof. Dr. P. Schweizer
2. Berichterstatter: Prof. Dr. K. E. Grund

Ἐν μνήμῃ τοῦ πατρός εμου

Inhaltsverzeichnis

Titel

Inhaltsverzeichnis

<u>Verzeichnis der Abbildungen und Skizzen</u>	S. 1
<u>Verzeichnis der Tabellen/Graphiken/Abkürzungen</u>	S. 2-3
<u>1. Einleitung</u>	S. 4-13
<u>2. Fragestellung</u>	S.14-16
<u>3. Material und Methoden</u>	S.17 -32

Teil 1: Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und Rattenembryonen

- 3.1. Versuchsplan
- 3.2. Material
- 3.3. Untersuchungsschritte
- 3.4. Ethikkommission
- 3.5. Bearbeitung des Materials
 - 3.5.1. Herstellung der Präparate aus der Leberpforte der Patienten und Rattenembryonen
 - 3.5.2. Färbung der Präparate
- 3.6. Beurteilungskriterien der Morphologie der Leberpforte
 - 3.6.1. Beurteilungskriterien der Histomorphologie der Leberpforte von Patienten
 - 3.6.2. Beurteilungskriterien der Histomorphologie der Leberpforte bei Rattenembryonen

Teil 2: Histologische Auswertung der Präparate und Korrelation mit dem postoperativem Gallefluss

- 3.7. Versuchsplan
- 3.8. Material
- 3.9. Untersuchungsschritte
- 3.10. Beurteilungskriterien der Morphologie der Leberpforte
- 3.11. Auswertung der Präparate
 - 3.11.1. Beschreibung des Computerprogramms zur Auswertung der Präparate
 - 3.11.2. Definition der Leberpforten- Regionen
 - 3.11.3. Bestimmung der Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge in der Leberpforte der Patienten
- 3.12. Beurteilung des Galleflusses der Patienten

Teil 1: Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und Rattenembryonen

- 4.1. Morphologie der Leberpforte bei EHGA im Vergleich zur normalen Leber
- 4.2. Morphologie der Primären Gallengänge
 - 4.2.1. Anzahl der Primären Gallengänge in Region II und III
 - 4.2.2. Gesamtfläche (μm^2) der Primären Gallengänge in Region II und III
- 4.3. Morphologie der duktilären Proliferate
 - 4.3.1. Anzahl der Proliferate der Gallengänge in Region II und III
 - 4.3.2. Gesamtfläche der Proliferate der Gallengänge in Region II und III
- 4.4. Morphologie der Vorstufen der Gallengänge
 - 4.4.1. Anzahl der Vorstufen der Gallengänge in Region II und III
 - 4.4.2. Gesamtfläche der Vorstufen der Gallengänge in Region II und III
- 4.5. Vergleichende Betrachtung der Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsstrukturen in Region II
- 4.6. Vergleichende Betrachtung der Anzahl der Gallengangsstrukturen in Region II
- 4.7. Vergleichende Betrachtung der Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsstrukturen in Region III
- 4.8. Vergleichende Betrachtung der Anzahl der Gallengangsstrukturen in Region III
- 4.9. Morphologie der Leberpforte von Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 15-17
 - 4.9.1. Morphologie der Gallengänge bei Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 15-17
- 4.10. Vergleich der Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und der Leberpforte bei Rattenembryonen
- 4.11. Vergleich der Morphologie der EHGA mit der Primär-Biliären Zirrhose

Teil 2: Korrelation der Histologie mit dem postoperativem Gallefluss

- 4.12. Vergleichende Betrachtung der Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsstrukturen in Region II und Korrelation mit dem postoperativem Gallefluss
- 4.13. Vergleichende Betrachtung der Anzahl der Gallengangsstrukturen in Region II und Korrelation mit dem postoperativem Gallefluss
- 4.14. Einzelfalldarstellungen
- 4.15. Altersabhängiger Vergleich von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge in Region II bei Patienten im Alter von 2 ½- 4 ½ versus 5 ½- 7 ½ Wochen
- 4.16. Korrelation von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge der Region II mit dem Gallefluss
 - 4.16.1.a) Patienten mit gutem Gallefluss; Verhältnis von Gesamtfläche der Primären

Gallengänge zu Proliferaten in Region II

4.16.1.b) Patienten mit schlechtem Gallefluss; Verhältnis von Gesamtfläche der Primären

Gallengänge zu Proliferaten in Region II

4.16.2.a) Patienten mit gutem Gallefluss; Verhältnis von Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II

4.16.2.b) Patienten mit schlechtem Gallefluss; Verhältnis von Anzahl der Primären

Gallengänge zu Proliferaten in Region II

4.17. Einzelfalldarstellung eines Patienten mit EHGA im Alter von 9 ½ Wochen

5. Diskussion

S. 89-117

Formulierung der Aufgabenstellung

Konzeption

Methoden

Vergleich der erhobenen morphometrischen Befunde mit Literaturangaben

Schlussfolgerungen und Konsequenzen

6. Zusammenfassung

S. 118-122

7. Literaturverzeichnis

Danksagung

Lebenslauf

Verzeichnis der Abbildungen und Skizzen

Leberpforte bei EHGA

- Abb. 1 Einteilung der Extrahepatischen Gallengangsatriesie nach makroskopischen Kriterien
 - Abb. 2a) Exploration der Leberpforte bei Hepatopertoenterostomie
 - Abb. 2b) Resektionsgrenzen bei der Hepatopertoenterostomie
 - Abb. 3 Normalbefund des Leberparenchyms
 - Abb. 4 Morphologie der Leberpforte bei EHGA
 - Abb. 5 Periportalfeld bei EHGA
 - Abb. 6 Region II (Fibroseplatte) bei EHGA
 - Abb. 7 Region II (Fibroseplatte) bei EHGA
 - Abb. 8 Primäre Gallengänge in Region II (Fibroseplatte)
 - Abb. 9 Primäre Gallengänge in Region II (Fibroseplatte) mit Vakuolisierung des Epithels
 - Abb.10 Duktuläre Proliferate entlang der Parenchym- Fibrosegrenze
 - Abb.11 Duktuläre Proliferate in Region III
 - Abb.12 Duktuläre Proliferate in Fibrosesepten in Region III
 - Abb.13 Duktuläre Proliferate in Fibrosesepten in Region III
 - Abb.14 Primäre Gallengänge in Region II
 - Abb.15 Primäre Gallengänge und duktuläre Proliferate in Region III
 - Abb.16 Proliferate und Primäre Gallengänge in Region II und III
 - Abb.17 Proliferate in Region III
 - Abb.18 Fibroseseptum in Region III
 - Abb.19 Fibroseseptum in Region III mit Proliferaten
 - Abb.20 Region II und III, kanalikuläre Cholestase
 - Abb.21 Periportalfeld in Region IV mit Vorstufen der Gallengänge
 - Abb.22 Fibroseseptum in Region IV
 - Abb.23 Rattenembryo d15, Hepatisches Divertikel
 - Abb.24 Rattenembryo d17, Gangstrukturen an der Kontaktstelle von Parenchym und Mesenchym
 - Abb.25 Rattenembryo d15, Primärer Gallengang
 - Abb.26 Rattenembryo d16, Proliferate
 - Abb.27 Rattenembryo d15, Hepatisches Divertikel
 - Abb.28 Rattenembryo d16, Primärer Gallengang
 - Abb.29 Rattenembryo d17
 - Abb.30 Primäre Gallengänge in Region II, EHGA
 - Abb.31 Proliferate in Region II/III bei EHGA
 - Abb.32 Vorstufen der Gallengänge in Region III bei EHGA
 - Abb.33 Proliferate in Region II/III bei EHGA
 - Abb.34 Kanalikuläre Cholestase in Region IV bei EHGA
 - Abb.35 Morphologie der Primär-biliären Zirrhose
-
- Skiz. 1 Zoneneinteilung der Leberpforte in Region I-IV
 - Skiz. 2 Darstellung des Vorgehens bei der Auswertung der Gallengänge in Region II und III
 - Skiz. 3 Darstellung des Vorgehens bei der Auswertung der Durchmesser der Gallengänge
 - Skiz. 4 Schematische Darstellung der Regionen I-IV der Leberpforte

Verzeichnis der Tabellen

- Tab. 1 Anzahl der Primären Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) und Region III (proximale Übergangszone)
- Tab. 2 Gesamtfläche und Durchmesser der Primären Gallengänge in Region II und III
- Tab. 3 Anzahl der Proliferate in Region II und III
- Tab. 4 Gesamtfläche und Durchmesser der Proliferate in Region II und III
- Tab. 5 Anzahl der Vorstufen der Gallengänge in Region II und III
- Tab. 6 Gesamtfläche und Durchmesser der Vorstufen der Gallengänge in Region II und III
- Tab. 7 Gesamtfläche der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region II
- Tab. 8 Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region II
- Tab. 9 Gesamtfläche der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region III
- Tab.10 Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region III
- Tab.11 Gesamtfläche der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region II unter Berücksichtigung des Galleflusses
- Tab.12 Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region II unter Berücksichtigung des Galleflusses
- Tab.13 Gesamtfläche der Gallengänge in Region II nach Unterteilung der Patienten in 2 Altersgruppen
- Tab.14 Anzahl der Gallengänge in Region II nach Unterteilung der Patienten in 2 Altersgruppen
- Tab.15 Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II bei Patienten mit gutem Gallefluss
- Tab.16 Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II bei Patienten mit schlechtem Gallefluss
- Tab.17 Fibrosegrad der Leberpforte bei Patienten mit EHGA
- Tab.18 Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II bei Patienten mit gutem Gallefluss
- Tab.19 Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II bei Patienten mit schlechtem Gallefluss
- Tab.20 Gesamtfläche der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region II bei einem 9½ Wochen alten Patienten
- Tab.21 Gesamtfläche der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region III bei einem 9½ Wochen alten Patienten
- Tab.22 Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region II bei einem 9½ Wochen alten Patienten
- Tab.23 Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region III bei einem 9½ Wochen alten Patienten

Verzeichnis der Graphiken

- Graph. 1 Gesamtfläche der Gallengänge in Region II bei 2½-7½ Wochen alten Patienten
- Graph. 2 Anzahl der Gallengänge in Region II bei 2½-7½ Wochen alten Patienten
- Graph. 3 Gesamtfläche der Gallengänge in Region III bei 2½-7½ Wochen alten Patienten
- Graph. 4 Anzahl der Gallengänge in Region III bei 2½-7½ Wochen alten Patienten
- Graph. 5 Gesamtfläche der Gallengänge in Region II bei 2½-7½ Wochen alten Patienten und Korrelation mit dem Gallefluss
- Graph. 6 Anzahl der Gallengänge in Region II bei 2½-7½ Wochen alten Patienten und Korrelation mit dem Gallefluss
- Graph. 7 Vergleich der Gesamtfläche der Gallengänge in Region II bei 2½-4½ und 5½ -7½ Wochen alten Patienten
- Graph. 8 Vergleich der Anzahl der Gallengänge in Region II bei 2½-4½ und 5½ -7½ Wochen alten Patienten
- Graph. 9 Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten bei Patienten mit gutem Gallefluss in Region II
- Graph.10 Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten bei Patienten mit schlechtem Gallefluss in Region II
- Graph.11 Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten bei Patienten mit gutem Gallefluss in Region II
- Graph.12 Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten bei Patienten mit schlechtem Gallefluss in Region II
- Graph.13 Gesamtfläche der Gallengänge in Region II bei einem 9½ Wochen alten Patienten
- Graph.14 Gesamtfläche der Gallengänge in Region III bei einem 9½ Wochen alten Patienten
- Graph.15 Anzahl der Gallengänge in Region II bei einem 9½ Wochen alten Patienten
- Graph.16 Anzahl der Gallengänge in Region III bei einem 9½ Wochen alten Patienten

Verzeichnis der Abkürzungen

EHGA	Extrahepatische Gallengangsatresie
CK	Cytokeratin
CMV	Cytomegalievirus
HOPA	Hämalaun- Orange G- Phosphormolybdänsäure- Anilinblau
PBC	Primär- biliäre Zirrhose
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
d	Tag (=dies)
D.	Ductus
Dd.	Ductus
A.	Arteria

1. Einleitung

Grundlagen zum Krankheitsbild der Extrahepatischen Gallengangsatresie

Die Extrahepatische Gallengangsatresie (EHGA) wird als Erkrankung aufgefaßt, bei der es durch einen progredienten fibrosierenden Prozess in der Leberpforte zur Obliteration der extra- und intrahepatischen Gallengänge kommt. Die Folge ist ein fibrosierender Strukturumbau der Leber.

Balistreri (2) beschreibt „die Extrahepatische Gallengangsatresie als das Endergebnis eines destruktiven, entzündlichen Prozesses, der intra- & extrahepatische Gallengänge betrifft und zu Fibrose und Verlegung des Gallengangsystems führt, mit der Entwicklung einer biliären Zirrhose. Eine Ursache ist bisher nicht bekannt.“

Da die Ätiologie und Pathogenese der EHGA bisher aber noch nicht schlüssig geklärt sind, soll die vorliegende Arbeit einen neuen Ansatz zu ihrer Aufklärung verfolgen.

Die EHGA ist selten. Mit einer Häufigkeit von ungefähr 1:12000-15000 Geburten ist sie jedoch die häufigste Ursache für den prolongierten Ikterus des Neugeborenen (54) und die häufigste Indikation für eine Lebertransplantation bei Kindern (75). Daneben müssen die Neonatale Hepatitis, eine infektiöse Hepatitis, ein alpha-1 Antitrypsinmangel, die progressive familiäre intrahepatische Cholestase und Stoffwechselerkrankungen beispielsweise als weitere Ursachen für den prolongierten Neugeborenenikterus abgegrenzt werden. Mädchen sind häufiger von der EHGA betroffen als Jungen (Mädchen: Jungen= 1: 0,64) (3,13,36).

Betroffen sind meist Patienten, deren Geburt am errechneten Termin bei normalem Geburtsgewicht und unauffälliger Postpartalperiode lag (2); andere Untersuchungen zeigten eine Häufung bei Kindern mit Untergewicht und Geburt am errechneten Termin (75). Es zeigte sich keine nachweisliche Häufung bei Frühgeborenen (32) und eine Diskordanz im Auftreten von EHGA bei Zwillingen (4,50). Aufgefallen ist ebenfalls eine saisonale Häufung von Dezember- März (75) und ein gehäuftes Auftreten bei Familienangehörigen (75), eine einzelne Aussage, die sich in anderen Studien nicht bestätigte (13).

Ätiologie der EHGA

Bisher werden verschiedene Ursachen für die Entstehung einer EHGA diskutiert:

1. Entzündliche/ infektiöse Genese: vermutet werden unter anderem virale Infektionen mit Reovirus Typ 3 (45,75), Rhesus- Rotavirus Typ A/C (39,40) und CMV (68), die bei Untersuchungen zur Pathogenese an Mäusen festgestellt wurden. In anderen Untersuchungen wird eine nicht näher gekennzeichnete infektiöse Cholangiopathie angenommen, die zu Degeneration der Hepatozyten und Epithelzellen der Gallengänge, mit nachfolgender Obliteration des Lumens, führt (28). Weitere Studien nehmen einen persistierenden entzündlichen Prozeß in der Leberpforte an, der zu progressiver Destruktion der Gallengänge führt (15,51).
2. Störung in der Morphogenese: genetische oder teratogene Ursachen, die zu Veränderungen in der Funktion des Transkriptionsfaktors oder in der Epithel-Mesenchym- Interaktion führen (4).
3. Toxisch bedingte Fehlbildung: Toxinexposition in utero (4,45). Im Gegensatz dazu fiel in der Zwillingsforschung auf, dass Fälle bekannt wurden, bei denen nur ein Zwilling von zweieiigen Zwillingen sowie einer von eineiigen Zwillingen von der Erkrankung betroffen war (45).
4. Immunologische Ursachen: es wird eine Störung der Immunantwort und/ oder der entzündlichen Reaktion, die nicht durch eine Infektion verursacht ist und möglicherweise Folge des Gallestaus oder eines bisher unbekanntes Prozesses ist, angenommen (4,54).
5. Ischämisch bedingte Obliteration: Störung der fetalen Durchblutung während der Entwicklung des hepatobiliären Systems mit daraus resultierender Schädigung der Gallengänge (4,20,26,53) oder Störung der perinatalen Durchblutung.

Pathogenese der EHGA

Derzeit gibt es folgende Ergebnisse zur Pathogenese der EHGA:

1. Infektiöse Ursache: Bei Mäusen wurde nachgewiesen, dass eine Infektion mit Reovirus-3 (45,72) und Rhesus- Rotavirus der Gruppe A/C zu Choledochusobliteration beziehungsweise zu dem typischen Bild der EHGA führt (39,45). Das Rotavirus Typ A-C konnte in einer anderen Untersuchung bei Patienten mit EHGA nicht als Ursache bestätigt werden (5).

2. Störung in der Morphogenese: angeborene Defekte der seitlichen Sequenz und Veränderungen in der Funktion des Transkriptionsfaktors oder der an der Epithel-Mesenchym- Interaktion beteiligten Substanzen könnten eine Rolle bei genetischen und teratogenen Mechanismen spielen (4). Die Störung der Genexpression von Signalmolekülen, extrazellulären Matrixproteinen und Rezeptoren führt zu abnormaler Organogenese. Es wurde bei Patienten mit EHGA eine steigende Expression von Zelladhäsionsmolekülen nachgewiesen (4). Das gehäuft kombinierte Auftreten extrahepatischer Anomalien wie kardiovaskuläre Defekte, Polysplenie und Situs inversus bei 10-25% der Patienten mit EHGA läßt zudem an eine genetische Komponente denken (32,62). In einer anderen Untersuchung wird eine pränatale Epithelschädigung an der Knospungsstelle des sich entwickelnden Gallengangsystems, das eine normale Wanderung und Differenzierung durchgemacht hat, als Ursache der EHGA angenommen (14). Andere Studien vermuten eine Störung der Gallengangsentwicklung an der embryonalen Gangplatte im Zeitraum der Gangentwicklung (sog. Malformation der Gangplatte) (11,12, 45,73). Es wird eine Störung der Morphogenese während der embryonalen Entwicklung oder ein Ausbleiben der Rekanalisation des D.hepaticus communis, was eine Gangatresie zur Folge hätte, angenommen (4,32,36). Vermutet werden Chromosomenanomalien, eine Störung der embryonalen Entwicklung in der 5. Gestationswoche oder die Schädigung der Gallenwege zu einem späteren Entwicklungszeitpunkt (62).
3. Toxische Ätiologie: bisher wurde kein spezielles Toxin nachgewiesen. Bei Lämmern wurden nach Mykotoxin- oder Phytotoxinexposition in der Leberpforte die typischen histologischen Veränderungen der Gallengangsatresie nachgewiesen (45). Bisher gibt es jedoch keinen Beweis, dass ein Toxin für die Entstehung der EHGA beim Menschen verantwortlich ist (45).
4. Immunologische Ursache: bei Patienten mit EHGA wurde eine Häufung bestimmter HLA- Antigene beobachtet, besonders HLA-B12 (63); diese Ergebnisse konnten bisher, auch in anderen Untersuchungen allerdings nicht bestätigt werden, aber es ließ sich eine Häufung bestimmter anderer Kombinationen von HLA- Molekülen erkennen (45,47). Zu Familiarität und Erbllichkeit waren aufgrund der HLA- Bestimmungen bisher aber keine definitiven Aussagen möglich (47). Die starke Entzündungsreaktion im Bereich der Leberpforte kann durch genetische Faktoren des Immunsystems bedingt sein (4,75); in der Zwillingsforschung zeigte sich bisher keine eindeutige Klärung der genetischen

Komponente (4,45,50,64), eine ethnische Häufung macht eine genetische Prädisposition wahrscheinlich. In der Zwillingsforschung konnten verschiedene Fälle beobachtet werden, bei denen nur einer von ein- oder zweieiigen Zwillingen von EHGA betroffen war (45). Ebenso lag bei HLA-identischen Zwillingen nur bei einem eine EHGA vor (2,45).

5. Ischämische Ursache: Angenommen wird die Obliteration von primär normal angelegten Gallengängen als Folge einer Schädigung der Gallengänge durch eine Durchblutungsstörung der Leberarterie in der Peri-/Postnatalperiode (4,20,26,47,53).

Schweizer kommt aufgrund histologischer Untersuchungen und Befunden aus der Zwillingsforschung zu einem anderen Bild. Nach seinen experimentellen (54) Befunden und den Untersuchungen bei eineiigen Zwillingen (50) ist die EHGA entweder eine Folge einer Ischämie oder eine Hemmungsfehlbildung als Folge eines angeborenen mesenchymalen Defekts.

Klinisch manifestiert sich die EHGA mit einem prolongierten Ikterus der über den physiologisch möglichen Neugeborenenikterus, also länger als 14 Tage nach der Geburt, anhält. Abgeschlagenheit, Hepatomegalie und acholische Stühle sind weitere Symptome (36). Eine andere seltene Form manifestiert sich mit einem Icterus praecox, der schon zum Zeitpunkt der Geburt vorliegt (36).

Nach Schweizer (54) lassen sich diese 2 verschiedenen Verlaufsformen der EHGA auch auf die Pathogenese hinweisend unterscheiden: Eine fetale/ embryonale, die sich mit einem prolongierten Ikterus von Geburt an manifestiert, und eine peri- oder postnatale Form, die sich mit einem erneuten Ikterus nach einem ikterusfreien Intervall nach Abklingen des physiologischen Neugeborenenikterus manifestiert. Die fetale Form hat eine Häufigkeit von 34%, die perinatale von 66% (54).

Für diese Unterteilung wird eine jeweils zeitlich unterschiedlich determinierte Schädigung angenommen, welche die verschiedenen klinischen Verläufe erklärt (42,54).

In diesem Kontext können auch histologisch unterschiedliche Veränderungen beobachtet werden. Es gibt Patientenbeobachtungen, die zeigen, dass die extrahepatischen Gallengänge erst postpartal vollständig obliterieren. Bei Patienten, bei denen postpartal ein ikterusfreies Intervall beobachtet wurde und die erst in den ersten Lebenswochen durch Stuhlfärbungen aufgefallen waren (32), konnten bei einer Operation innerhalb der ersten Lebenswochen im

Bereich der Leberpforte noch durchgängige Gallengänge nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf obliterierten die Gallengänge wahrscheinlich aber, weil sie wegen fehlender oder mangelnder Galledrainage durch Inaktivität atrophiert sind (32,45).

Bei Patienten mit der fetalen Verlaufsform entsteht die Obliteration der Gallengänge im Bereich der Leberpforte schon intrauterin. Bei der explorativen Laparotomie sind in der Leberpforte keine Gallengangsstrukturen oder –rudimente zu erkennen (32).

Die **Therapie und Prognose der Erkrankung** wird entscheidend durch eine frühzeitige Diagnose und Therapie beeinflusst (48,54,57). Wird ein prolongierter Neugeborenenikterus mit konjugierter Hyperbilirubinämie und acholischen Stühlen festgestellt, sollte eine rasche Diagnostik erfolgen, um eine EHGA auszuschließen oder frühzeitig diagnostizieren zu können (20).

Zur diagnostischen Abgrenzung werden Sonographie, Laborparameter (=Cholestaseparameter) und eine Leberbiopsie in der 4./5. Lebenswoche zur histologischen Sicherung durchgeführt (32,54). Vor der 4.-5. Lebenswoche ist in vielen Fällen keine eindeutige histologische Differenzierung zwischen einer gesunden Leber, einer EHGA und einer Neonatalen Hepatitis möglich (28,37,38).

Histologische Kriterien der EHGA

Es gibt folgende typische histologische Kriterien für die EHGA, die mit einer Leberbiopsie festgestellt werden können: Pathognomonisch sind dukkuläre Proliferationen (Synonym: Gallengangsproliferate) und die Verbreiterung der Glisson'schen Dreiecke (36). Daneben werden, für die klinische Diagnostik aber nicht brauchbar, eine hiläre Fibroseplatte, sowie eine Obstruktion der großen Gallengänge (32) und eine Degeneration der Epithelzellen der Gallengänge in der elektronenmikroskopischen Untersuchung (2) beobachtet.

Wenn bildgebende Verfahren und die Biopsie der Leber die EHGA nicht ausschließen können, ist zur Sicherung der Diagnose eine explorative Laparotomie mit intraoperativer direkter Cholangiographie notwendig (32).

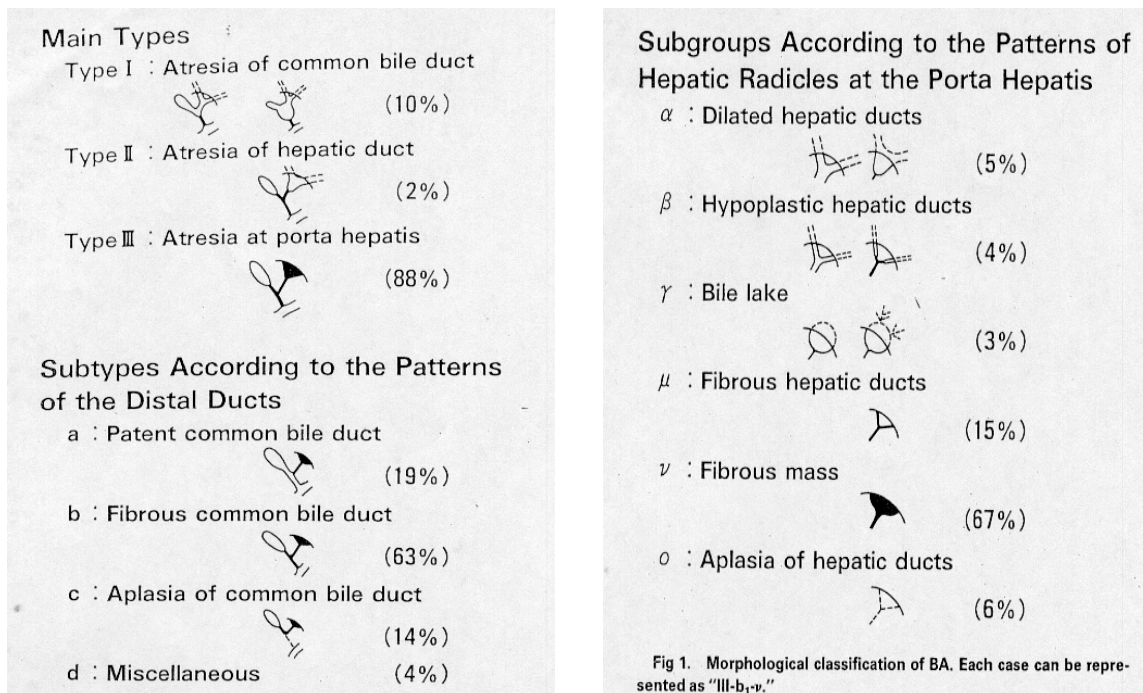


Abb.1 Extrahepatische Gallengangsatresie: Einteilung der EHGA nach makroskopischen Kriterien in Haupttypen, sowie Subgruppen und Subtypen nach Ohi et al. (Literatur aus 36).

Makroskopische Typen der Leberpforte bei EHGA

Makroskopisch lassen sich im Bereich der Leberpforte 3 verschiedene Haupttypen mit ihren Subtypen nachweisen (Abb.1 aus (36)).

Morphologische Einteilung der EHGA in Haupttypen:

- Haupttypen: Typ I: Isolierte Atresie des D.choledochus (10%)
- Typ II: Isolierte Atresie der Dd.hepatici (2%)
- Typ III: Atresie der Leberpforte der Dd. Hepatici und des D.choledochus (88%)

Diesen Haupttypen lassen sich noch Subtypen zuordnen, die Veränderungen im distalen Gallengangsbereich aufweisen. Zusätzlich gibt es Subgruppen, die mit Veränderungen der Strukturen der Leber einhergehen.

„Korrigierbare“ und „nicht korrigierbare“ Formen der EHGA

Unter praktischen Gesichtspunkten werden die oben genannten Typen in chirurgisch „korrigierbare“ und „nicht korrigierbare“ Formen (32,36,45,54) unterteilt.

„Korrigierbare Formen“ können mit verschiedenen operativen Verfahren behandelt werden, die abhängig vom vorliegenden Typ der EHGA angewendet werden können und sich in der Resektionsgrenze im Bereich der Leberpforte unterscheiden (32,70).

Die operativ „korrigierbaren“ Formen, also die Typen I und II, haben nur einen Anteil von weniger als 10% der Fälle mit EHGA. Bei ihnen liegt das bindegewebige und narbig veränderte Areal nicht direkt im Leberfortenbereich, so daß dort noch normale, durchgängige Gallengänge erkennbar sind. Deshalb kann eine Hepaticoenterostomie durchgeführt werden. Dabei wird eine Anastomose zwischen durchgängigen proximalen Anteilen des Gallengangsystems in der Leberpforte und dem Darm zur Drainage der Galleflüssigkeit (= Biliodigestive Anastomose) hergestellt (36).

Der **operativ „nicht korrigierbare“ Typ III** liegt in ca.90% vor. Dabei liegt die Obstruktion der Gallengänge im Bereich der Leberpforte oder sogar weiter proximal im Leberparenchym (Abb.1).

Hepatoporto- Enterostomie

Zur Korrektur dieses Obliterationstypus gibt es zwei Verfahren:

Bei der Hepatoporto- Enterostomie nach Kasai (32) wird das sichtbar fibrosierte Gewebe im Bereich der Leberpforte, in dem die Abflußstörung für die Galleflüssigkeit vermutet wird, reseziert. Anschließend wird eine Anastomose zwischen den dort vermuteten, eröffneten Gallenkanälchen der Leberpforte und einer Y-förmig ausgeschalteten Jejunumschlinge hergestellt. Die Resektionsgrenze liegt in der portalen Ebene, die die Bindegewebsplatte mit der Leberoberfläche bildet (Abb.2). Dadurch entsteht keine Parenchymschädigung, die bei ihrer Heilung zu einem narbigen Verschuß der offenen Gallengängen im Bereich der Leberpforte führen würde (54).

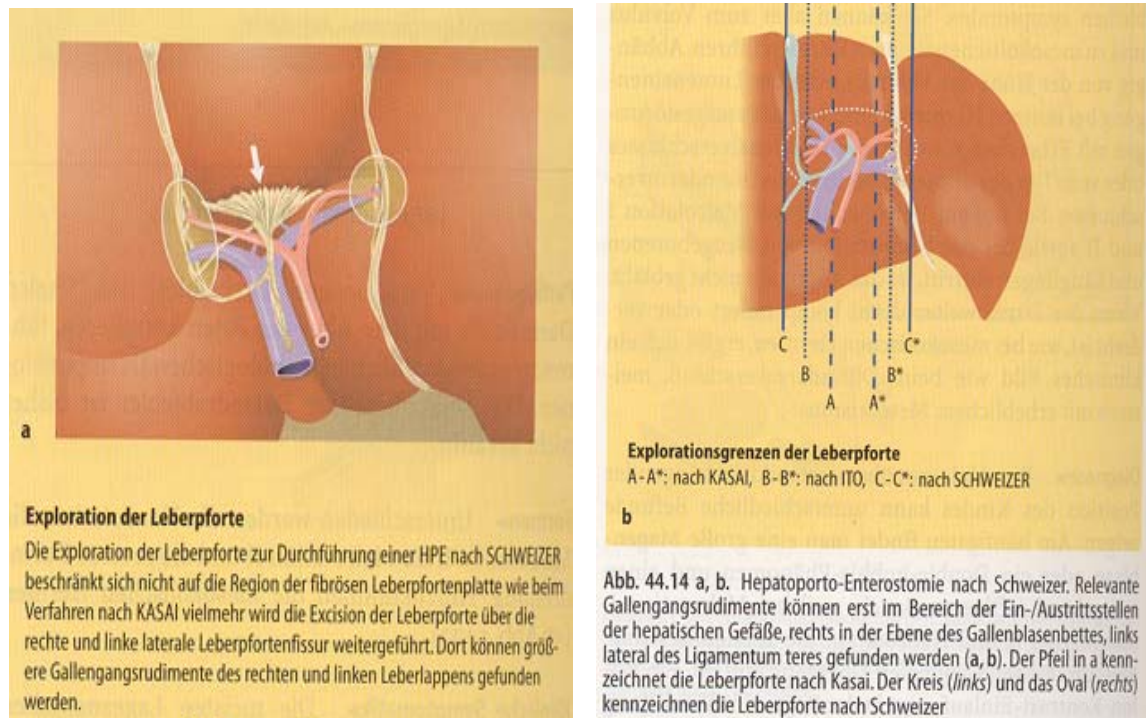


Abb.2a) Exploration der Leberpforte bei EHGA zur Durchführung der Hepatoporto-
enterostomie nach Schweizer und Kasai

b) Darstellung der Resektionsgrenzen der Hepatoportoenterostomie nach Kasai/Ito und
Schweizer (aus Siewert, Chirurgie, 7.Aufl.,2000, Springerverlag (61))

Bei der **erweiterten oder Extended Hepatoportoenterostomie nach Schweizer** (Abb.2), wird die Resektionsgrenze in der Leberpforte nach lateral, bis zu den beiden lateralen Fissuren, ausgedehnt, um die dort liegenden Gallengänge, die die in den Fissuren aus- oder eintretenden Gefäße begleiten, zu eröffnen und nach anschließender Anastomose der Leberpforte mit einem Jejunumabschnitt die Drainagefläche zu vergrößern (51,70).

Die Leberpforte von Kasai entspricht also nicht der Leberpforte von Schweizer. Bei der Hepatoportoenterostomie nach Schweizer werden die Gefäße in den lateralen Fissuren der Leber völlig skelettiert, um dort möglicherweise verlaufende Gallengangsrudimente zu eröffnen.

Die Hepatoportoenterostomie kann in den meisten Fällen zwar den Gallefluss herstellen, ist aber oft keine kurative Therapie (32,55). Die 5-Jahres-Überlebenszeit nach Hepatoportoenterostomie liegt bei ca. 60% (36). Die 10 und 20-Jahres-Überlebenszeit liegt bei ca. 25-35% (34,46).

Prognose der Erkrankung

Ohne operative Therapie ist die Prognose der Erkrankung allerdings infaust (23,47,54). Die 3-J-Überlebenszeit der Patienten mit EHGA liegt ohne operative Therapie bei <10% (36).

Die Patienten sterben meistens innerhalb von 2 Jahren an der progredienten Leberinsuffizienz und deren Folgen.

Die rasche chirurgische Intervention bringt bei der EHGA eine Verbesserung der Prognose durch Vermeidung oder Verzögerung der Progredienz der Entwicklung einer Leberzirrhose und der damit verbundenen Folgen (4,48,52,69).

Der biliär bedingte **Umbau der Leberstruktur** läßt sich in 4 Schweregrade (nach Schweizer/Müller) einteilen (54):

- Grad I : geringe Bindegewebsvermehrung im Glisson'schen Dreieck, keine Veränderung der histologischen Struktur der Leberläppchen.
- Grad II: der perilobuläre Bindegewebsring ist dichter und verbreitert.
- Grad III: der dichte und verbreiterte perilobuläre Bindegewebsring bildet eine breite Kontaktzone zwischen benachbarten Glisson'schen Triaden.
- Grad IV: der perilobuläre Bindegewebsring bricht die Grenzmembran der Leberläppchen auf. Das Leberläppchen wird bindegewebig invadiert.

1/3 der Patienten haben nach der Operation eine gute Prognose. 1/3 weist zwar einen anhaltenden postoperativen Gallefluss auf, entwickelt aber Komplikationen der Zirrhose. Das dritte 1/3 weist nach der Hepatoportoenterostomie einen inadäquaten Gallefluss mit rascher Ausbildung einer progressiven Fibrose und Leberzirrhose auf (45). Rund 2/3 der Patienten mit EHGA müssen sich einer Lebertransplantation unterziehen (2,17,30,45).

Lebertransplantation

Indikationen für eine Lebertransplantation sind eine bereits manifeste Leberzirrhose bei Diagnosestellung, eine nicht erfolgreiche Hepatoportoenterostomie, sowie ein spätere Progredienz der Erkrankung, besonders hervorgerufen durch rezidivierende Cholangitiden, die portale Hypertonie und die erhebliche Wachstumsretardierung (4,36,48). Zur Objektivierung des Erkrankungsstadiums dienen Laborparameter zur Beurteilung von Cholestase und Leberfunktion: Quickwert, Thrombozytenzahl, Funktionsparameter wie Albuminsynthese, die Cholestaseparameter (direktes Bilirubin, γ GT, Alkalische Phosphatase) und der histologische Befund.

Die **Prognose der Erkrankung** wird entscheidend durch folgende Kriterien beeinflusst (2,4,6,54,56).

- Alter zum Zeitpunkt der Operation
- präoperative Leberhistologie (Fibrosegrad)
- Querdurchmesser der Gallengängchen in der Leberpforte
- Erfahrung des Operateurs
- postoperativer Verlauf der Cholestase (u.a. direktes Bilirubin)
- Frequenz und Schweregrad der postoperativ auftretenden Cholangitiden (31)

Eine **gute Prognose** wird durch folgende Kriterien definiert:

- rasche operative Therapie vor dem 60. Lebensjahr, postoperativ guter Gallefluss (2,32,52)
- Gallengänge in der Leberpforte mit einem Querschnitt $>150\mu\text{m}$, sowie kolumnares Epithel (10,24,32)
- eine sehr gute Prognose kann erwartet werden, wenn die prähilären Gallengangstrukturen größer als $400\mu\text{m}$ sind (49,56).

Eine **schlechte Prognose** wird durch folgende Kriterien definiert (2,4):

- älter als 60 Lebensjahre bei der Operation
- Nachweis einer Leberzirrhose bereits in der ersten Leberbiopsie zur Diagnosesicherung der Erkrankung (32)
- undurchgängige Gallengänge; bzw. keine Gallengänge im Bereich des Leberhilus (56)

2. Ziel der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit soll der morphogenetische Aspekt der EHGA untersucht werden, der bisher in der Diskussion über die Pathogenese wenig beachtet wurde. In einem völlig neuen Ansatz soll durch einen Vergleich der Histomorphologie der Leberpforte von Patienten und den embryologischen Entwicklungsstufen der Leberpforte von Rattenembryonen die Pathogenese der EHGA ins Auge gefasst werden.

Unter der Annahme, dass es sich bei der Erkrankung um eine Entwicklungsstörung der Gallengänge in der Embryonalzeit handelt, wurde der histologische Befund der Leberpforte von Patienten mit EHGA mit den histologischen Befunden von Rattenembryonen aus dem Stadium der Gallengangsentwicklung verglichen.

Es sollte die Frage geklärt werden, ob bei EHGA in der Leberpforte noch embryonale Strukturen vorkommen, die auf einen Entwicklungsstopp der Gallengänge also eine Hemmungsfehlbildung hinweisen könnten.

Zusätzlich wurde der Gallefluss unter histomorphologischen Aspekten beurteilt. Dazu wurde die Bedeutung von Anzahl und Gesamtfläche der Gallengangstrukturen im Bereich der Leberpforte für den Gallefluss untersucht.

Die Untersuchung soll also folgende Fragen beantworten:

1. Liefern die histologischen Befunde Gemeinsamkeiten oder Ähnlichkeiten, die einen Hinweis auf die Pathogenese der EHGA geben?
2. Geben die histologischen Befunde einen Hinweis, dass bei der EHGA eine primär gestörte Entwicklung der Leberpforte vorliegt oder nach zunächst normaler embryologischer Entwicklung erneut ein embryologisches, jedoch pathologisches Entwicklungsstadium auftritt?
3. Sind bei der EHGA embryologische Entwicklungsstufen wie bei Rattenembryonen erkennbar?
4. Können die Gallengangstrukturen eines Präparates der Leberpforte bei EHGA einem embryologischen Stadium bei Rattenembryonen zugeordnet werden?

Zu dieser Studienprojektierung führten folgende Überlegungen:

1. Bei der EHGA erkennt man in histologischen Präparaten der Portalfelder, besonders im Bereich des Parenchym-Fibrose-Übergangs, duktiläre Proliferate mit charakteristischem Epithel (54), die in einer gesunden Leber nicht vorkommen.

Die Frage ist daher berechtigt, ob bei der EHGA entweder ein Entwicklungsstopp der

Leberpforte vorliegt (32,73) und daher noch Strukturen nachweisbar sind, die einem bestimmten embryologischen Entwicklungsschritt zugeordnet werden können oder ob zu einem späteren Zeitpunkt durch Einsprossen von Bindegewebe ins Parenchym postnatal embryologische Gallengangstrukturen induziert wurden. Analog dazu ist aus der Literatur bekannt, dass bei Ratten während der Entwicklung der Gallengänge durch Einsprossen von Bindegewebe ins Parenchym der Leber Gallengangstrukturen entstehen (18,42). Zur Beantwortung dieser Frage soll die Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA einerseits und Rattenembryonen andererseits verglichen werden.

Die Entwicklung der Leber und Gallenwege läuft in den Carnegie-Stadien 11- 23 ab (18): Von der Darmseite her entwickelt sich das hepatische Divertikel (Abb.23), eine Ausstülpung des Vorderdarms, das sich in der 4. Gestationswoche entwickelt (18,65). Es wird durch angrenzendes Bindegewebe des Septum transversum induziert. Aus diesem hepatischen Divertikel entsteht das extrahepatische Gallenwegssystem (67). Es entwickelt sich im hepatischen Divertikel an der sog. Gangplatte, einer Zellschicht aus primitivem Gallengangepithel, die sich entlang der Pfortader und ihren Pfortaderästen entwickelt. An der Gangplatte findet eine Balance zwischen Gangzellproliferation und Zelltod statt, die zur Ausbildung des adulten Gallengangsystems führt. Dieser Prozess, der in der Leberpforte beginnt und ins Parenchym fortschreitet, findet beim Menschen ab der 11. Gestationswoche statt (74).

Von der Leberseite her differenzieren Leber-Vorläuferzellen zu Hepatozyten und Gallengangsepithelzellen (8,18) (Abb.29).

An der dukталen Platte kommt es im weiteren Verlauf zu einer Verbindung, einem Andocken, der intra- und extrahepatischen Gallengangstrukturen (4).

Um diese Vorgänge im Hinblick auf die Entstehung einer EHGA nachzustellen, wurden Rattenembryonen aus den Carnegie-Stadien 20- 23 untersucht.

Die Carnegie- Stadien 20- 23 entsprechen den Entwicklungstagen 15- 16 der Rattenembryonen (18).

Am Entwicklungstag 15 lassen sich im Bereich der Leberpforte der Rattenembryonen der Ductus hepaticus, Gangzellstränge, die sich an der Verbindungsstelle von Portalsinus und Leberparenchym entwickeln, sowie Leberstränge, die sich in Leberäste aufteilen, erkennen. Der D.choledochus ist im hepatischen Divertikel erkennbar (18).

Am Entwicklungstag 16 lassen sich ein im unteren Bereich großer und in seinen oberen Ästen enger Ductus hepaticus erkennen. Zusätzlich zeigt sich im Ductus hepaticus kolumnares und in den Gallengängen des Glisson'schen Dreiecken kuboidales Epithel (18). Mit dem Ductus hepaticus verbundene Gallengänge proliferieren an Verbindungsstellen mit Lebersträngen in das periportale Mesenchym. An diesen Stellen kann man zahlreiche Gallekanaliculi erkennen, die in Gallengänge einmünden (18).

2. Zur Korrelation des morphologischen Befundes mit dem Gallefluss wurden die Gallengangsstrukturen in der Leberpforte ausgemessen und untersucht, welche Konstellation einen bestimmten Gallefluss zur Folge hat. Besondere Aufmerksamkeit wurde den Duktuli gewidmet.
3. Eine weitere Arbeitsgruppe untersuchte parallel ebenfalls Präparate aus der Leberpforte von Patienten mit EHGA und von Rattenembryonen. Dabei wird zur Bestimmung des Alters der Gallengänge im Leberparenchym eine c-met-Färbung durchgeführt, um einen Hinweis zu erhalten, ob bei der EHGA Vorstufen der Gallengänge im Leberparenchym vorhanden sind und an welcher Stelle diese lokalisiert sind. Bei der c-metfärbung wird ein Antikörper gegen Cytokeratin verwendet, der das Gallengangepithel markiert und die Gallengänge somit erkennbar macht (65).

Mit dieser Untersuchung soll festgestellt werden, welches Alter die duktilären Proliferate bei unterschiedlicher Lokalisation im Parenchym der Leber haben bzw. ob Vorstufen der Gallengänge im Bindegewebe vorliegen. Dadurch soll gezeigt werden, ob Gallengänge, die tiefer im Leberparenchym liegen, später entstanden sind als andere, die näher an der Parenchym-Fibrosegrenze der Leberpforte liegen und ob die Bindegewebseinsprossung zur Entstehung der Gallengänge geführt hat. An Rattenembryonen wird zum Vergleich dieselbe Untersuchung durchgeführt, um die Generation der Gallengänge bestimmen zu können.

Ziel dieser Teiluntersuchung ist es, herauszufinden, ob die Gallengänge im Bereich der Leberpforte alle dasselbe Alter haben, was für eine embryologische Entwicklungsstörung spräche. Weisen die Gallengänge im Bereich der Leberpforte unterschiedliche Altersstufen auf, spräche dieser Befund für eine sekundär reaktive Gallengangsbildung.

3. Material und Methoden

Teil 1: Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und Rattenembryonen

3.1. Versuchsplan

Zur Charakterisierung der Leberpfortenhistomorphologie wurden folgende Merkmale definiert und untersucht:

1. Die Art der Gallengangsstrukturen in der Leberpforte: Primäre Gallengänge, Gallengangsproliferate und Gallengangsvorstufen
2. Die Anzahl der Gallengänge, differenziert nach Primären Gallengängen, Ductuli und Vorstufen der Gallengänge
3. Die Größe der drainierenden Fläche der Gallengangsstrukturen in der Leberpforte

Der histologische Vergleich mit der „Leberpforte“ von Rattenembryonen beachtete dieselben Merkmale, also wiederum die Art der Gallengangsstrukturen, die Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge der Leberpforte.

Das Alter der Rattenembryonen entsprach dem embryonalen Entwicklungsstadium der Leber- und Gallenwege in den Carnegie-Stadien 20- 23, also dem Entwicklungszeitraum von Tag 15 bis 17 entsprechend (18).

3.2. Material

In die Untersuchung wurde das Biopsie- und Excisionsmaterial von 11 Kindern (6 Mädchen und 5 Jungen) aufgenommen, die zwischen 1990 und 2000 im Alter zwischen 2½ bis 7½ Wochen nach der Geburt und präoperativ bioptisch gesicherter EHGA operiert wurden. Berücksichtigt wurden nur Patienten, von denen noch vollständige, unversehrte und damit auswertbare Präparate der Leberpforte vorhanden waren.

Zudem wurde das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Operation auf den Zeitraum bis 8 Wochen nach Geburt begrenzt, um die Veränderungen der Leberpforte durch Sekundärphänomene, besonders durch die progrediente Fibrosierung und entzündliche Veränderung der Leberpforte, zu minimieren. Die Präparate sollten im Hinblick auf die Fibrosierung der Leber möglichst gleiche Veränderungen erfahren haben. Diese beiden Einschränkungen führten zur kleinen Zahl von nur 11 auswertbaren Patienten.

Ratten wurden zum Vergleich gewählt, weil sie nach Godlewski (18) in der embryonalen Entwicklungsperiode der Carnegie- Stadien 11- 23 „Ähnlichkeit und das Vorhandensein derselben Leberstrukturen“ wie der Mensch zeigen. Auf einen Unterschied soll aufmerksam gemacht werden: Ratten haben keine Gallenblase.

Wegen der embryonalen Ähnlichkeit der Gallenwegsstrukturen sind Ratten für den Vergleich am besten geeignet.

Das Alter der Rattenembryonen reichte vom Entwicklungstag 15 bis 17. Pro Entwicklungstag wurden 2 Rattenembryonen untersucht. In diesem Entwicklungszeitraum, der den Carnegie Stadien 20– 23 entspricht, findet die Entwicklung des hepatischen Divertikels, die Weiterentwicklung des Leberparenchyms und die Ausbildung der Gallengänge, des D.hepaticus und des D.choledochus, statt.

Im Bereich des hepatischen Divertikels der Rattenembryonen sind in den einzelnen Stadien folgende Strukturen erkennbar (18):

- Stadium 20 (d15): Entwicklung der sogenannten Gallengangplatte. Im periportalen Bindegewebe sind solide Gangzellstränge erkennbar, die sich entlang der Grenze von Leberparenchym und Portalsinus entwickeln; es zeigt sich dichtes Leberparenchym, ein großer D. hepaticus, der am Kontaktpunkt der Leberstränge mit dem Mesoderm des Lig. hepatoduodenale liegt und sich in 4 Äste aufteilt. (Zur Veranschaulichung kann Abb.23 im Kap. Ergebnisse dienen).
- Stadium 21/ 22 (d15,5): Kein Unterschied zu Stadium 20.
- Stadium 23 (d16): Das Leberparenchym zeigt irreguläre Leberstränge; Leberparenchym und Duodenum werden durch einen großen D. hepaticus miteinander verbunden; im unteren Bereich hat dieser ein großes und in seinen oberen Ästen ein kleines Lumen; das Epithel des D.hepaticus ist kolumnar, das Epithel der Gallengänge in den Glisson´schen Dreiecken ist kuboidal; an der Spitze dieser Äste proliferieren die Gallengänge in das periportale Mesenchym an der Verbindungsstelle mit den Lebersträngen; es liegen viele Gallekanalikuli vor, die in Gallengänge einmünden. (Zur Veranschaulichung können Abb.26 und 28 im Kap. Ergebnisse dienen).

- Stadium 23 (d17): Ähnliche Histologie wie an d16; die Gallengangsstrukturen lassen sich tiefer im Parenchym nachweisen, die Vorstufen der Gallengänge liegen am Übergang von Mesenchym zu Parenchym und weisen ein Lumen auf. In einigen Fällen sind clusterartige Strukturen erkennbar. (Zur Veranschaulichung können Abb.24 und 29 im Kap. Ergebnisse dienen).

3.3. Untersuchungsschritte

Der histomorphologische Aufbau der Leberpforte bei EHGA wurde unter Beachtung der Lokalisation der Gallengangsstrukturen, des Bindegewebsanteils, der Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge im Bereich der Übergangszone von Parenchym und Fibroseplatte untersucht. Die Gesamtflächen der Primären Gallengänge, der Gallenproliferate und ihrer Vorstufen wurden zum Alter der Patienten korreliert.

Zusätzlich, d.h. über die methodisch definierte Grenze von 8 Lebenswochen hinaus, werteten wir Präparate der Leberpforte eines Patienten aus, der erst im Alter von 9½ Wochen operiert werden konnte. Bei ihm hatte sich trotz des fortgeschrittenen Alters postoperativ ein guter Gallefluss ergeben. Die Ergebnisse dieses Patienten wurden getrennt dargestellt und mit den Werten der anderen Patienten verglichen.

Die Morphologie der Leberpforte von Rattenembryonen aus den Entwicklungstagen 15 bis 17 wurde ebenfalls an Schnittpräparaten unter Beachtung der Lokalisation, Anzahl und Größe der Gallengangstrukturen untersucht. An den genannten Tagen entwickeln sich die Leber und Gallenwege.

Um einen Vergleich der Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge der Leberpforte von Rattenembryonen mit den Befunden von Patienten durchführen zu können, wurden die Gallengangsstrukturen ebenfalls typisiert und vermessen. Der Vergleich forderte auch die Abgrenzung folgender Typen: Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge der 1. und 2. Generation, separat für Region II und Region III.

3.3.1. Vergleich der Morphologie der Leberpforte der Patienten und der Rattenembryonen

An die getrennte Auswertung der Präparate von Patienten und Rattenembryonen schloß sich ein Vergleich der Befunde unter Berücksichtigung der bereits genannten Kriterien, Morphologie, Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge, an.

Ziel der Untersuchung war es, zu klären, ob sich die embryologischen Entwicklungsstufen der Gallengänge, die in den histologischen Präparaten der Ratten zu erkennen sind, auch bei Patienten mit EHGA nachweisen lassen.

3.4. Ethikkommission

Zur Klärung der Pathogenese der EHGA wurden die Leberpfortenexcidate von Patienten untersucht. Die Verwendung des Materials zu wissenschaftlichen Zwecken erfolgte gemäß den Richtlinien der Ethikkommission mit dem Einverständnis der Eltern. Da es Ziel der Untersuchung war, festzustellen, ob sich im Bereich der Leberpforte der Patienten Entwicklungsstufen aus der Zeit der Entstehung der Gallengänge befinden, ob also embryologische Strukturen vorhanden sind, mußte eine Vergleichsgruppe, bei der diese Entwicklungsstufen sicher vorliegen, herangezogen werden.

Aus ethischen Gründen wurde eine Untersuchung an menschlichen Embryonen vermieden. Da in der Literatur beschrieben wird, daß Rattenembryonen für einen Vergleich des Gallengangsystems geeignet sind (18), wurden die Untersuchungen mit Präparaten von Rattenembryonen durchgeführt. Die Entwicklung des Gallengangsystems der Ratte entspricht weitgehend der Entwicklung des menschlichen Gallengangsystems, so dass ihre Befunde für einen Vergleich geeignet sind.

Die Bedingungen der Ethikkommission wurden also beachtet und eingehalten.

3.5. Bearbeitung des Materials

Für die Untersuchung wurden Querschnitte aus den in Paraffin eingebetteten Leberpfortenexcidaten der betroffenen 11 Kinder hergestellt. Diese Schnitte wurden für die Auswertung mit einer HOPA- Färbung bearbeitet.

Die HOPA- Färbung ist eine etablierte, spezielle Färbung zur Darstellung des Bindegewebes. Das Bindegewebe stellt sich blau dar, Sekretgranula der Parenchymzellen gelb. Deshalb ist das Bindegewebe sehr gut vom Parenchym abgrenzbar.

3.5.1. Herstellung der Präparate aus der Leberpforte der Patienten und der Rattenembryonen

Für die Untersuchung wurden histologische Präparate der betroffenen Kinder und Präparate der Rattenembryonen benötigt. Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen standen Paraffinblöcke zur Verfügung, in die das bei der

Operation entnommene Gewebe aus der Leberpforte der Kinder eingebettet war. Aus jedem dieser Blöcke wurden am Mikrotom direkt aufeinanderfolgende Schnittpräparate aus dem Leberpfortenbereich hergestellt. Von den Rattenembryonen lagen ebenso Paraffinblöcke, je 2 Rattenembryonen für die Entwicklungstage 15, 16 und 17, vor. Aus diesen Blöcken wurden Serienlängsschnitte der Rattenembryonen am Mikrotom hergestellt.

Die Schnittpräparate aus der Leberpforte der Patienten und die der Rattenembryonen wurden am Mikrotom hergestellt (Firma Leitz, Typ 1515), das auch als Schlittenmikrotom bezeichnet wird. Dieses ist zur Serienschnittherstellung geeignet. Es besitzt ein feststehendes Messer und einen verschiebbaren Objektisch. Für die Paraffinschnitte wurde ein biplanes Messer (Messer C) verwendet. Zwischen Messerachse und Objektfläche wurde ein Neigungswinkel von 15° eingestellt, der für Paraffinschnitte am besten geeignet ist. Die Schnittdicke war 5 µm.

Anschließend wurden die Objektträger durch Bestreichen mit je einem Tropfen Eiweiß-Glycerin und entsprechender Markierung der Objektträger vorbereitet. Nach Fixierung des Paraffinblocks auf dem Objektisch lief die Herstellung der Schnittpräparate der Rattenembryonen folgendermaßen ab:

Auf die vorbereiteten Objektträger wurde ein Tropfen Aqua destillata gegeben und dann 3 Schnitte mit einem Pinsel vom Messer auf den Objektträger aufgetragen. In einem Wasserbad mit einer Temperatur von 40- 42°C wurden die Schnitte direkt danach gestreckt und nach Aufziehen von 15- 18 Schnitten auf einen Objektträger wurde dieser zum Trocknen auf ein Wärmetischchen gelegt. Anschließend wurden die Präparate noch 24h im Wärmeschrank bei 35°C getrocknet. Das Auftragen der Präparate auf den Objektträger erfolgte immer von links nach rechts, wobei die Markierung des Objektträgers immer links war. Von den Rattenembryonen stellten wir jeweils Serienlängsschnitte des gesamten Embryos her, so daß das Lebergewebe vollständig auf den Objektträgern vorhanden ist.

Bei den Paraffinblöcken mit dem Gewebe der Patienten wurde in gleicher Weise vorgegangen. Auf jeden Objektträger wurden nach oben genannter Objektträgervorbereitung 2 Schnitte aufgetragen und insgesamt 4 Schnitte aus der Leberpforte jedes Patienten hergestellt.

Anschließend folgte die Färbung der Präparate von Mensch und Ratte mit der HOPA-Färbung, eine speziellen Bindegewebsfärbung. Folgende Lösungen sind für diese Färbung nötig: Hämatoxylin – Orange G- Phosphormolybdänsäure- Anilinblau.

3.5.2. Färbung der Präparate

Zur Vorbereitung der Färbung wurden die Schnitte vorbehandelt und eine Entparaffinierung der Präparate mit Xylol durchgeführt.

- | | |
|-------------|-----------|
| 1. Xylol I | 2 Minuten |
| 2. Xylol II | 2 Minuten |

Durchführung der sogenannten „absteigenden“ Alkoholreihe, die bei einer Färbung in wäßriger Phase notwendig ist:

- | | |
|-----------------|-----------|
| 3. Alkohol 100% | 2 Minuten |
| 4. Alkohol 100% | 2 Minuten |
| 5. Alkohol 96% | 2 Minuten |
| 6. Alkohol 90% | 2 Minuten |
| 7. Alkohol 90% | 2 Minuten |
| 8. Alkohol 80% | 2 Minuten |

Anschließend Durchführung der **HOPA- Färbung**:

- | | |
|--|--------------------|
| 9. Spülen in Aqua destillata | kurzer Spülvorgang |
| 10. Kernfärbung in Hämalaun | 10 Minuten |
| 11. Wässern in kaltem Leitungswasser | 10 Minuten |
| 12. Spülen in Aqua destillata | kurzer Spülvorgang |
| 13. Orange G (Zugabe von 1 Tropfen Essigsäure 96%) | 10 Minuten |
| 14. Abspülen in Aqua destillata | kurz eintauchen |
| 15. Anilinblau | 2 Minuten |
| 16. Spülen in Aqua destillata | kurzer Spülvorgang |

Zur Entwässerung der Präparate wurde eine „aufsteigende“ Alkoholreihe durchgeführt:

- | | |
|---------------------------|--------------------|
| 17. Spülen in Alkohol 90% | kurzer Spülvorgang |
| 18. Alkohol 96% | 5 Minuten |
| 19. Alkohol 99% | 5 Minuten |
| 20. Alkohol 99% | 5 Minuten |

Zur Vorbereitung der Präparate zur Eindeckung wurde Xylol verwendet.

- | | |
|--------------|-----------|
| 21. Xylol I | 5 Minuten |
| 22. Xylol II | 5 Minuten |

Danach Eindeckung der Präparate mit DePeX.

Alle Lösungen waren in je einer Schiefferdecker'schen Küvette vorbereitet.

Nach oben genannter Reihenfolge wurde eine Färberei hergestellt, die Färbekörbchen mit je 15-19 Präparaten bestückt und anschließend die Färbung mit folgenden Lösungen durchgeführt:

1. Hämalan nach Mayer (Mayer's saures Hämatoxylin)
2. Wässrige Orange G- Lösung ca. 1%, Zugabe von 5 Tropfen Eisessig/ 100ml
3. Anilinblau- Lösung 1% in Phosphormolybdänsäure 1%

Die Färbung führt zu folgendem Ergebnis:

- Bindegewebe: blau
- Sekretgranula und Erythrozyten: gelb

3.6. Beurteilungskriterien der Morphologie der Leberpforte

3.6.1. Beurteilungskriterien der Morphologie der Leberpforte von Patienten mit EHGA

Für die Beurteilung der Morphologie der Leberpforte von Patienten wurden die Leberpfortenpräparate in 3 gleich große Felder eingeteilt (2 laterale und ein mediales Feld). In diesen 3 Feldern wurde der jeweilige Typ von Gallengangsstrukturen bestimmt.

Folgende Gallenwegsstrukturen wurden unterschieden: Primäre Gallengänge, Gallengangsproliferate (=Ductuli), Vorstufen der Gallengänge. Die Kriterien zur Einteilung dieser Strukturen werden im Folgenden noch genau beschrieben.

Zusätzlich wurde die Anzahl der ins Parenchym einsprossenden Fibrosesepten mit der Frage bestimmt, ob es einen Zusammenhang zwischen der Menge des Bindegewebes und der Anzahl der Proliferate gibt. Außerdem wurde untersucht, ob Gallekanalikuli im Parenchym vorhanden sind und diese Anschluss zum Gallengangsystem im Fibrosebereich besitzen und somit zur Drainage der Galleflüssigkeit beitragen können.

Kriterien zur Einteilung der Gallengangsstrukturen bei EHGA

Die Gallengangsstrukturen wurden in den Regionen II (Fibroseplatte) und III (Übergangszone) bezüglich Anzahl und Gesamtfläche separat gemessen.

Die Gangstrukturen wurden nach folgenden Kriterien einem Typus zugeordnet:

-Primäre Gallengänge sind durch folgende Merkmale definiert:

- Eine Gangstruktur befindet sich in unmittelbarer Nähe der portalen Vene und Arterie
- Eine Gangstruktur befindet sich eingebettet im Bindegewebe der Region II (Fibroseplatte) mit einem Abstand zur Parenchym- Fibrosegrenze, der durch periportales Bindegewebe gebildet wird
- Eine Gangstruktur mit kubischem Epithel
- Zur Veranschaulichung können Abb. 6 und 7 dienen.

-Proliferate sind durch folgende Merkmale definiert:

- Die Gallengangsstrukturen befinden sich direkt an der Parenchym- Fibrosegrenze
- Sie haben keine direkte Beziehung zu den periportal Gefäßen
- Zur Veranschaulichung können Abb.12 und 14 dienen.

-Vorstufen der Gallengangsproliferate sind durch folgende Merkmale definiert:

- Sie liegen im Parenchym nahe der Parenchym- Fibrosegrenze mit möglicher Vorwölbung ins Periportalfeld
- Sie haben eine clusterartige, rosetten- oder tubulusförmige Struktur im Leberparenchym direkt am Rand zur periportal Fibrose oder zu Fibrosesepten
- Sie liegen in Region III (Übergangszone)
- Zur Veranschaulichung kann Abb. 21 und 22 dienen.

Zur Bestimmung der Gallengangsstrukturen in den Fibrosesepten, die ins Parenchym einstrahlen, wurden die gleichen Kriterien angewendet.

3.6.2. Beurteilung der Histomorphologie der Leberpforte bei Rattenembryonen

Als Vergleichsgruppe wurden aus den bereits genannten Gründen Rattenembryonen gewählt.

Je zwei Rattenembryonen der Entwicklungstage 15, 16 und 17 wurden untersucht. Dazu wurden Serienlängsschnittpräparate der Rattenembryonen hergestellt und anschließend eine HOPA- Färbung durchgeführt.

In einem ersten Untersuchungsschritt wurden die Präparate im Hinblick auf den Typus der Gallengangstrukturen untersucht.

Analog zur Untersuchung am Menschen wurden besonders die Morphologie der Gallengänge, Primäre Gallengänge, „Proliferate“, Vorstufen der Gallengänge der 1. und 2. Generation, beachtet sowie deren Lage im Parenchym- Mesenchymbereich und deren Entwicklungsverlauf innerhalb der Entwicklungstage 15-17 unterschieden.

Kriterien zur Einteilung der Gallengangsstrukturen bei Rattenembryonen

In der Zuordnung der Gallengangstrukturen zu einem Typus wurden folgende Merkmale angewandt:

- Primäre Gallengänge:
 - Lokalisiert in der Nähe eines großen periportal Gefäßes
 - von Mesenchymschicht umgeben
 - Zur Veranschaulichung kann Abb.25 dienen.

- „Gallengangsproliferate“:
 - marginal an der Parenchym- Bindegewebsgrenze lokalisiert, nur mit geringem Mesenchymmantel umgeben, ohne benachbartes größeres Gefäß;
 - Lage im Mesenchym, das nach Durchbrechen der Grenzmembran ins Parenchym verlagert ist
 - Zur Veranschaulichung kann Abb.26 dienen.

- Vorstufen der Gallengänge (1.Generation):
 - liegen im Parenchym, aber direkt am Rand zum Mesenchym, zum Teil mit, zum Teil ohne Lumenbildung
 - z.T. clusterartige Lagerung an der Parenchym- Mesenchymgrenze
 - liegen nahe am Parenchym- Fibroseübergang, in der Nähe des hepatischen

- Divertikels, nicht in der Peripherie
- Zur Veranschaulichung können Abb.25 und 26 dienen.

- Vorstufen der Gallengänge (2.Generation):
 - clusterartige Lagerung an der Parenchym- Mesenchymgrenze
 - weiter zentral im Parenchym liegend als die Gänge der 1. Generation
 - Lage weiter entfernt vom hepatischen Divertikel als die Gallengänge der 1. Generation
 - Zur Veranschaulichung kann Abb.24 dienen.

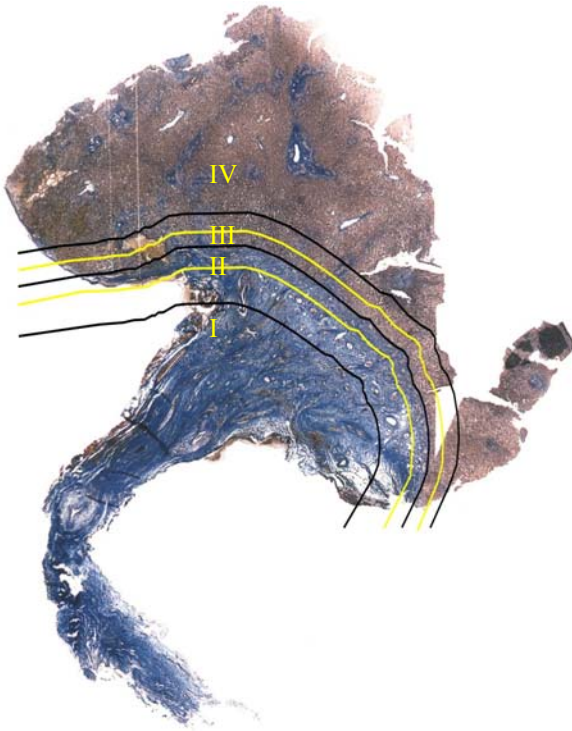
Ziel der Untersuchung war es mit einem Vergleich der Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und bei Rattenembryonen herauszufinden, ob eine morphologische Ähnlichkeit der Gallengänge bei EHGA und Rattenembryonen vorliegt und somit ein Hinweis für die Pathogenese der Erkrankung erhalten werden kann.

Teil 2: Histologische Auswertung der Präparate und Korrelation mit dem postoperativem Gallefluss

Anschließend wurde zur Beurteilung der Funktion der Primären Gallengänge und Gallengangsproliferate eine Bestimmung der Anzahl, Gesamtfläche und Durchmesser der genannten Gallengänge im Bereich der Leberpforte bei Patienten mit EHGA durchgeführt und mit dem Ausmaß des Galleflusses korreliert.

Die Resektionslinie im Bereich der Leberpforte bei der Hepatopertoenterostomie liegt im Bereich der Fibroseplatte und Übergangszone. Für das Ausmaß des postoperativen Galleflusses von entscheidender Bedeutung sind die Gallengänge im Bereich der Fibroseplatte (Region II) am Übergang zum Leberparenchym. Die hergestellten Schnittpräparate wurden im Bereich der Fibroseplatte (Region II) sowie Übergangszone (Region III) ausgewertet. Besondere Beachtung galt der distalen Übergangszone der Fibroseplatte, da in diesem Bereich die für den postoperativen Gallefluss und damit für die Prognose wichtigen Gallengänge liegen.

An der Trennlinie dieser beiden Regionen wurden die für die Galledrainage wichtigen Abschnitte in die Auswertung einbezogen. Ausgewertet wurde entlang dieser Trennlinie in Region II und III jeweils ein Gewebestreifen, der in Region II (Fibroseplatte) die distale Übergangszone darstellt und in Region III (Übergangszone) die proximale Übergangszone darstellt (Skizze 1).



Skizze 1
Leberpforte bei EHGA; Darstellung der Regionen I-IV der Leberpforte durch Unterteilung mittels schwarzer Linien. Die mittlere schwarze Linie stellt die Grenzlinie zwischen Region II und III dar. Die sie umgebenden hellen Linien stellen in Region II die distale Übergangszone und in Region III die proximale Übergangszone dar.

In diesen Zonen wurden die Gesamtfläche und die Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge der Patienten bestimmt.

3.7. Versuchsplan

Es gilt derselbe Versuchsplan wie für Teil 1, der in Kap. 3.1. beschrieben wurde.

3.8. Material

Für Teil 2 wurden ebenfalls wie für Teil 1, wie in Kap. 3.2. beschrieben wurde, Leberpfortenexcidate von Patienten mit EHGA sowie Rattenembryonen untersucht.

3.9. Untersuchungsschritte

Durch Einbeziehung der Größe des Galleflusses im postoperativen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen konnte eine Beziehung zwischen der Morphologie der Leberpforte, der Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge einerseits und dem Gallefluss sowie der Prognose andererseits hergestellt werden.

3.10. Beurteilungskriterien der Morphologie der Leberpforte

Die Beurteilungskriterien der Morphologie der Leberpforte von Patienten und Rattenembryonen stimmen mit den Kriterien, wie in Kap. 3.6. beschrieben, überein.

3.11. Auswertung der Präparate

Die Leberpforte läßt sich, wie in Kap. Ergebnisse 4.1. beschrieben, in 4 Regionen einteilen. Zur Beurteilung der Funktion der Primären Gallengänge sowie der Gallengangsproliferate wurde anschließend eine Größenbestimmung der Gallengänge durchgeführt. Die Regionen II und III wurden für die Beurteilung der Funktion der Gallengänge genauer untersucht. Dabei wurden im Bereich der Fibroseplatte (Region II) und der Übergangszone (Region III) die Anzahl, Gesamtfläche, sowie der Durchmesser der Primären Gallengänge und Gallengangsproliferate bestimmt (Skizze 3).

Besondere Beachtung galt dabei der Region II, da in dieser Region die für den postoperativen Gallefluss entscheidenden Gallengänge liegen. In Region II wurde besonders die distale Übergangszone untersucht (Skizze 1).

3.11.1. Beschreibung des Computerprogramms zur Auswertung der Präparate

Die Ausmessungen und Berechnungen wurden mit Hilfe des Computerprogramms Quantimet durchgeführt. Mit diesem Programm war es möglich bestimmte Strukturen auf dem Computerbildschirm zu umfahren und auszumessen. Aus den markierten Flächen wurden Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge berechnet.

3.11.2. Definition der Leberpforten- Regionen

Nach der in Kap. Ergebnisse 4.1 beschriebenen Unterteilung der Leberpforte in 4 Regionen wurden für die Auswertung der Funktion der Gallengänge die Regionen II und III genauer untersucht.

Für die Auswertung der Präparate der Patienten mit dem oben bereits beschriebenem Computerprogramm zur Flächenbestimmung der einzelnen Gallenwegsstrukturen wurden zur Beschreibung ihrer Topographie Auswertungskriterien und Regionen formuliert:

2 Regionen wurden bei 20-facher mikroskopischer Vergrößerung festgelegt: Region II entspricht der Fibroseplatte der Leberpforte, Region III entspricht dem Übergang der Fibroseplatte der Leberpforte ins Parenchym.

Die Grenze der beiden Regionen wird als Parenchym- Fibrosegrenze bezeichnet. Beide Regionen, das war Voraussetzung für ein geeignetes Präparat, mußten über das gesamte Präparat direkt entlang der Parenchym- Fibrosegrenze verlaufen.

Zur Bestimmung der Gallengangsanzahl und Fläche wurde entlang der Trennlinie der Regionen II und III jeweils ein Gewebestreifen beider Regionen ausgewertet, da diese Abschnitte für den Gallefluss von entscheidender Bedeutung sind.

Die ausgewertete Zone in Region II (Fibroseplatte), also der Gewebestreifen entlang der Regionentrennlinie, wird als distale Übergangszone bezeichnet. Die ausgewertete Zone in Region III (Übergangszone), also der Gewebestreifen entlang der Regionentrennlinie, wird als distale Übergangszone bezeichnet (Skizze 1).

Wenn aus der Fibroseplatte (Region II) in das Parenchym einstrahlende Fibrosesepten vorlagen, wurde die Grenzlinie zwischen Parenchym- und Fibrosezone virtuell so verfolgt, als würde kein Fibroseseptum vorliegen. Im Präparat wurde eine dem Grenzverlauf entsprechende Linie gezogen, ohne das einstrahlende Septum bei der Grenzziehung zu beachten.

Die in den Fibrosesepten erscheinenden Gallengangstrukturen wurden nach den beschriebenen Kriterien den Gruppen der Region III (Übergangszone) zugeteilt.

3.11.3. Bestimmung der Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge in der Leberpforte von Patienten

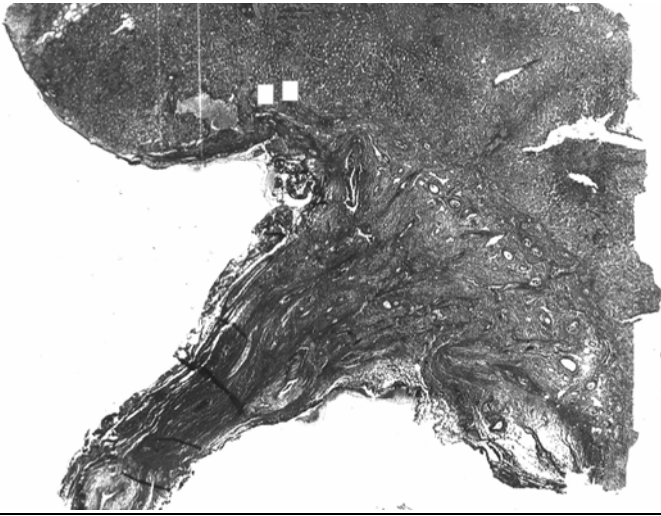
Für die Auswertung wurde eine 20-fache mikroskopische Vergrößerung verwendet. Das Mikroskop war mit einem Computerbildschirm verbunden, auf dem das histologische Präparat abgebildet wurde, dort wurde es bearbeitet und mit dem Programm ausgemessen.

In jedem Präparat wurden zu Beginn der Untersuchung, wie oben beschrieben, die Regionen II und III festgelegt und markiert. Dann wurden nacheinander alle Gallengangstrukturen dieser Regionen über die gesamte Breite des Präparats bestimmt und vermessen, indem die einzelnen Strukturen am Bildschirm nacheinander umfahren wurden.

Der Computer berechnete daraus die Gesamtfläche der Gallengangstrukturen in den einzelnen Gruppen und Regionen: die gemessene Fläche der Gallengänge umfaßt das Lumen des Gallengangs mit seinem Epithel, umfahren wurde also die Grenzmembran.

Da die Regionen II und III über die gesamte Breite des Präparats verliefen, konnten sie auf dem Bildschirm bei 20-facher Vergrößerung in einem Ausschnitt nicht vollständig dargestellt werden. Aus diesem Grund wurde das gesamte Präparat auf dem Bildschirm

mit „Kästchen“ entlang der Parenchym- Fibrosegrenze in Felder unterteilt. Sie wurden vermessen, in dem das „Kästchen“ entlang der Parenchym- Fibrosegrenze verschoben wurde (Skizze2).



Skizze 2
Leberpforte bei EHGA;
schematische Darstellung des
Vorgehens bei der Auswertung
der Präparate. Verschieben des
Kästchens jeweils in Region II
und III direkt entlang der
Parenchym- Fibrosegrenze; das
Kästchen in der Skizze markiert
das Vorgehen in Region III, der
proximalen Übergangszone

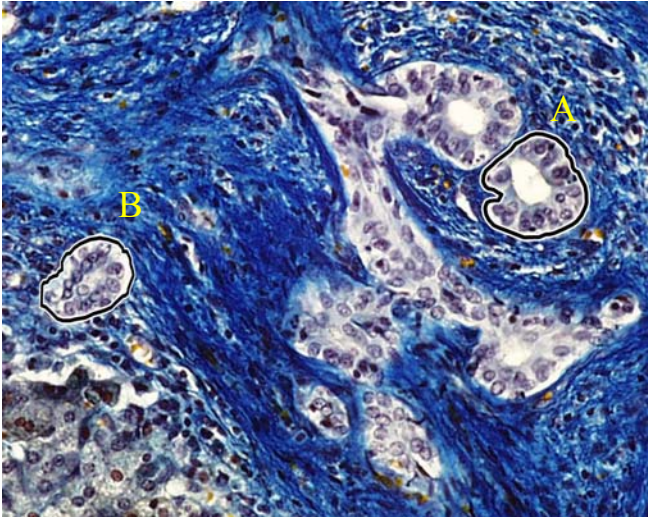
Zuerst wurde Region II ausgewertet: Das Präparat wurde mit dem Mikroskop so eingestellt, daß kein Präparatanteil unberücksichtigt blieb. Begonnen wurde grundsätzlich am linken Präparatrand.

Zuerst wurden sämtliche Gallengangstrukturen, die die Merkmale der Primären Gallengänge erkennen ließen, am Computerbildschirm umfahren. Dabei wurde die Grenzmembran umfahren, weil von ihr abgelöstes Epithel eine Verfälschung des Lumens bewirken würde. Gemessen wurde also das Lumen + Epithel.

Danach folgte im gleichen Kästchen die Ausmessung der Proliferate und der Vorstufen der Gallengänge.

Nach der Flächenbestimmung der Strukturen in einem Kästchen wurde dieses entlang der Parenchym- Fibrosegrenze innerhalb einer Zone soweit nach rechts verschoben, daß die vorher rechts randbildende Struktur nun den linken Rand bildete. In allen weiteren Kästchen wurde gleichermaßen vorgegangen. Danach erfolgte dieselbe Ausmessung in Region III.

Da die Gesamtsumme der Fläche der Gallengänge im Querdurchmesser bestimmt werden sollte, wurde bei jeder Gallengangstruktur ein quer geschnittener Bereich gesucht und für die Auswertung umfahren. Auch bei einem schräg/ längs angeschnittenem Gallengang wurde ein benachbarter quer angeschnittener Gangabschnitt gesucht und umfahren. Wenn kein exakt quer angeschnittener Gang vorlag, wurde ein Ganganschnitt, der dem Querdurchmesser am ehesten entsprach, aufgesucht und dieser als Querdurchmesser dieses Ganges in die Messung einbezogen (Skizze 3).



Skizze 3 zur Veranschaulichung des Vorgehens bei der Ausmessung des Gangdurchmessers; Primäre Gallengänge (A) und Proliferate (B) in Region II (distale Übergangszone mit beschriebener ausgemessener Ganggröße bei schräg angeschnittenem Gallengang);
HOPA 8x

Das Ergebnis der Messung im Hinblick auf den gesamten Querschnitt der Gallengänge ist die jeweilige Gesamtsumme der Fläche, getrennt für Primäre Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge sowie die Ganganzahl pro Präparat, getrennt nach Region II und Region III.

Von jedem Patienten wurden 3 Präparate aus der Leberpforte mit dem gleichen Verfahren ausgewertet und aus den jeweiligen Gesamtsummen der einzelnen Gallenganggruppen und Regionen dieser 3 Ergebnisse pro Patient der Mittelwert für Region II und III für die Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge berechnet. Diese Ergebnisse wurden in Graphiken veranschaulicht.

3.12. Beurteilung des Galleflusses der Patienten

Zusätzlich zur histologischen Auswertung der Leberpforte wurde der Gallefluss der betroffenen 11 Kinder registriert. Da der Gallefluss nicht direkt meßbar war, wurde er indirekt nach dem Normalisierungsverlauf des Bilirubinwertes und der Stuhlfarbe beurteilt.

Die **Kriterien für die Zuteilung** zu Gruppen waren: guter und schlechter Gallefluss, kein Gallefluss, Gallefluss wieder versiegt:

- Ein guter Gallefluss wurde festgelegt, wenn sich eine Normalisierung des direkten Bilirubinwertes innerhalb von 4 Wochen nach der Operation bei normal gefärbten Stühlen zeigte.
- Ein schlechter Gallefluss wurde festgelegt, wenn sich nur ein geringer Abfall des direkten Bilirubinwertes innerhalb von 4 Wochen nach der Operation und nur gering gefärbte Stühle zeigten.

- Kein Gallefluss wurde festgelegt, wenn kein Abfall des direkten Bilirubins, sowie acholische Stühle vorlagen.
- Ein wieder versiegter Gallefluss wurde festgelegt, wenn sich zunächst mindestens 4 Wochen ein guter Gallefluss mit deutlichem Abfall des Bilirubinspiegels zeigte und danach ein Versiegen mit Wiederanstieg des Bilirubinspiegels zu beobachten war.

Nach Zuordnung der Größe des Galleflusses zu den Patienten wurde eine Korrelation zum morphometrischen Befund durchgeführt: Fläche und Anzahl der verschiedenen Gallengangstypen wurden in Korrelation mit dem Gallefluss bewertet.

Das Ziel der Untersuchung ist es, eine Aussage über die Funktion der Proliferate und die Prognose der Erkrankung bei entsprechender Histologie zu machen.

4. Ergebnisse

TEIL 1

Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und Rattenembryonen

4.1. Morphologie der Leberpforte bei EHGA im Vergleich zur normalen Leber

a) Normalbefund einer Leberpforte und Leberparenchym

Die Leberpforte liegt in der querliegenden Furche der Leber zwischen Lobus caudatus proximal und Lobus quadratus distal sowie zwischen den beiden lateralen Fissuren. Die lateralen Fissuren werden durch verschiedene Strukturen gebildet: Die linke Fissur wird durch das Lig. venosum bzw. Lig. teres hepatis markiert, die rechte durch das Gallenblasenbett. Es liegt keine fibröse Platte vor, sondern nur eine geringfügig festere Leberkapsel. In der Leberpforte lassen sich die V. portae hepatis, 2 Äste der A. hepatica propria und der D. hepaticus dexter et sinister, die sich distal zum D. hepaticus communis vereinigen, erkennen. Sie münden oder entspringen in den lateralen Fissuren eng begleitet von den Gallengängen.

Dieser Normalbefund wurde in den folgenden Vergleichen als Referenzbefund zugrundegelegt.

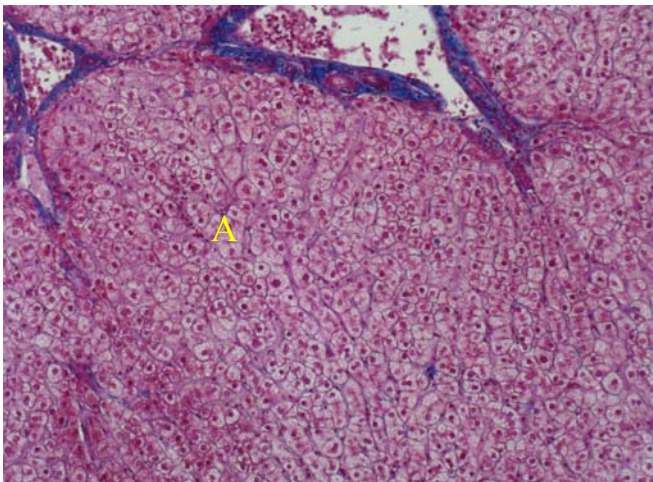
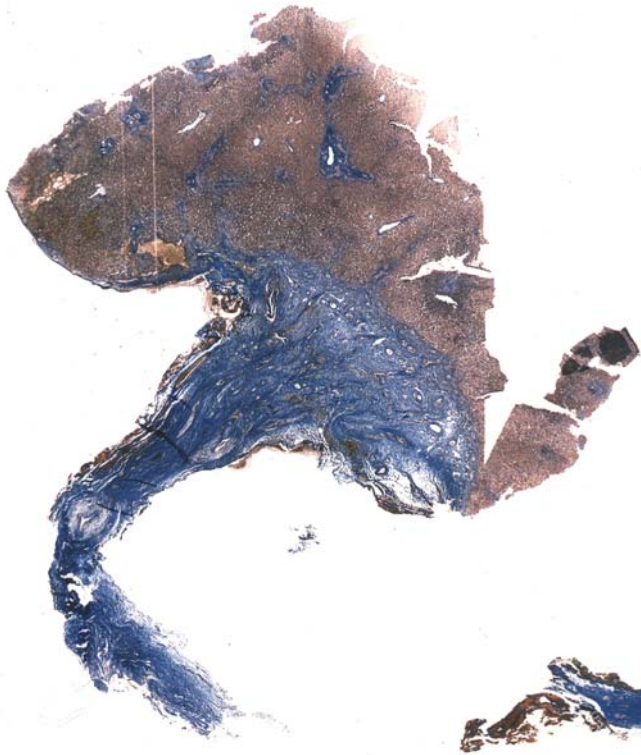


Abb.3
Normale Anatomie der Leber,
Leberparenchym (A) mit strang-
förmiger Hepatozytenanordnung und
Glissonscher Trias.
Mensch: HE, 12,5x

b) Morphologie der Leberpforte bei EHGA



Skizze 4 Darstellung der Leberpfortenregionen I-IV; (Region I liegt unten, die weiteren Regionen grenzen direkt an)

Abb.4
Leberpforte bei EHGA, Gallengangsrudiment (Region I), Fibroseplatte (Region II) mit Gallengängen und Gefäßen, Übergangsregion (Region III), Leberparenchym (IV), mit Fibrosepten und Periportalfeldern.
HOPA, 2,5xfach.

Die exzidierte Leberpforte einer EHGA läßt sich in folgende 4 Abschnitte gliedern (Abb.4 und Skizze 4): Gallengangsrudiment (Region I), Fibroseplatte (Region II), Übergangsregion (Region III) und Leberparenchym (Region IV).

Im distalen Bereich der Leberpforte liegt das Gallengangsrudiment (Region I), welches dem obliterierten Ductus choledochus entspricht. Der Ganganschnitt, sofern überhaupt einer vorhanden ist, wird von dichtem Bindegewebe umgeben und zeigt ein obliteriertes Lumen und gelegentlich Cluster von Epithel.

Proximal davon, in Richtung Leberparenchym, verbreiterte sich das Bindegewebe zur sog. hilären Fibroseplatte (Region II), die an das Leberparenchym (Region IV) grenzt. Als drainierende Fläche der Leberpforte gilt die Übergangszone in Region II und III. In

diesen Regionen wurden eine proximale und eine distale Übergangszone festgelegt (Skizze 1). Im dichten Bindegewebe der Fibroseplatte liegen Arterien, Venen, Gallengänge und Gallengangsproliferate. Die Zahl der Gallengänge schwankt je nach Alter der Patienten. Das bei den einzelnen Patienten unterschiedlich dichte Bindegewebe zeigt metrisch und morphologisch unterschiedliche Gallengänge. Bei den meisten Patienten nimmt die Anzahl der Gallengänge von distal nach proximal zu, das Maximum liegt im Bereich der Parenchym- Fibrosegrenze (Region III). Primäre Gallengänge und Proliferate lassen sich entlang der gesamten Parenchym- Fibrosegrenze erkennen (Abb.6,14 und 18). In der Nähe der portalen und arteriellen Gefäßäste in geringem Abstand von der Parenchym- Fibrosegrenze liegen Primäre Gallengänge, ringförmig umgeben von Bindegewebe und lassen sich in den lateralen und auch den medialen Bereichen der Leberpforte nachweisen. Bei einem von 11 Patienten sind in den lateralen Bereichen keine Primären Gallengänge nachzuweisen. Die Gallengangsproliferate der Leberpforte an der Parenchym-Fibrosegrenze liegen eng entlang dem Parenchym.

Zum Teil läßt sich noch eine Verbindung der Proliferate zum Leberparenchym, von dem sie sich abschnüren, erkennen (Abb. 13 und 19). Die Proliferate werden nur von einer dünnen lockeren, bindegewebigen Schicht vom Parenchym abgegrenzt. Bei einigen Patienten (Nr.1 und 10) lassen sich Proliferate auch im dichten Bindegewebe der Fibroseplatte erkennen.

Aus der Fibrosezone strahlen Fibrosesepten ins Leberparenchym ein, die zahlreiche Gallengangsproliferate und Vorstufen der Gallengänge enthalten (Abb.13,15 und 21). Es gibt schmale und breite Septen, die z.T. auch eine Verbindung zu einer Glisson'schen Trias haben. Im Leberparenchym, nahe an der Grenze zur Fibrosezone, kann man schmales Bindegewebe, das zwischen den Hepatozyten liegt und von der hilären Fibroseplatte ins Parenchym einzieht, erkennen (Abb.22). Bei manchen Patienten (Nr.1,7,9 und 10) lassen sich in diesem Bindegewebe Gallekanaliculi, zum Teil mit Cholestasepföpfen, erkennen (Abb.11,17 und 20). Gallekanalikuli sind auch im Parenchym in der Nachbarschaft zu den Periportalfeldern zu erkennen (Abb.34).

In der periportalen Fibrose liegen spärliche, zellige Infiltrate, die auf eine chronische, z.T. auch granulierende und vernarbende Entzündung hinweisen (Abb.7 und 9).

Das Leberparenchym (Region IV) ist durch eine starke Bindegewebsvermehrung gekennzeichnet. Bei Patienten (Nr. 1,10 und 12) im Alter von 2½ und 7 Wochen mit hochgradiger septaler Fibrosierung liegen zahlreiche Proliferate vor (Abb.13 und 15). Die periportalen Felder sind erheblich bindegewebig verbreitert, meist enthalten sie zahlreiche Gallengangsproliferate, die sich konzentrisch um die Glisson'sche Trias anordnen und von dieser durch dichtes Bindegewebe abgedrängt werden (Abb.5). Im fibrosenahen Parenchym zeigen sich bei einigen Patienten (Nr.1 und 10) Pseudolobuli als Zeichen der Leberzirrhose.

Ein Patient (Nr.12), der erst im Alter von 9½ Wochen operiert werden konnte, zeigt folgende Histomorphologie der Leberpforte: In der hilären Fibroseplatte besteht eine fortgeschrittene hochgradige Fibrose mit wenigen Primären Gallengängen und wenigen Gangproliferaten entlang der Parenchym- Fibrosegrenze. Das Parenchym wird von einer fortgeschrittenen hochgradigen septalen Fibrose mit Ausbildung von Pseudolobuli zerteilt. Zusätzlich besteht eine enorme bindegewebige Verbreiterung der normal angelegten Glisson'schen Trias mit zahlreichen Gangproliferaten im Randbereich der Fibrose (Abb.5). Im Leberläppchen sind Zeichen der kanalikulären Cholestase erkennbar.

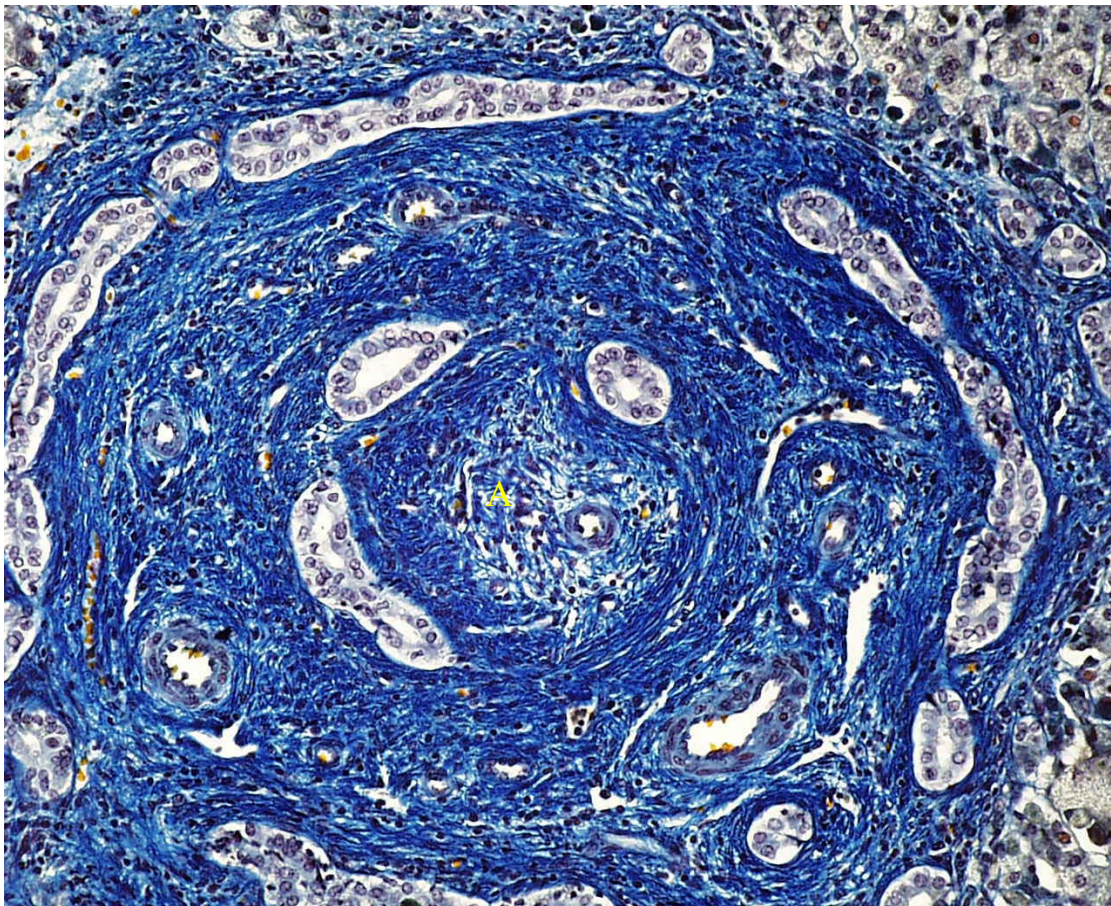


Abb.5
Periportalfeld aus Region III bei EHGA; normal angelegte Glisson'sche Trias (A) mit Primären Gallengängen; konzentrische Anordnung von Gallengangsproliferaten, die durch Bindegewebe vom Parenchym getrennt sind. HOPA, 12,5x

4.2. Morphologie der Primären Gallengänge

Primäre Gallengangsrudimente (Abb.7) sind präexistente Gallengänge. Sie liegen in Region II (Fibroseplatte) in unmittelbarer Nähe zur V. portae bzw. ihrer Äste und der A. hepatica propria und ihren Ästen (Abb.6). Sie werden ringförmig von dichtem Bindegewebe umgeben und liegen in einem deutlichen Abstand zur Parenchym-Fibrosegrenze (Abb. 30).

In Region IV (Leberparenchym) sind Primäre Gallengänge im Glisson'schen Dreieck erkennbar. Sie liegen in direkter Nachbarschaft zu den portalen und arteriellen Gefäßästen.

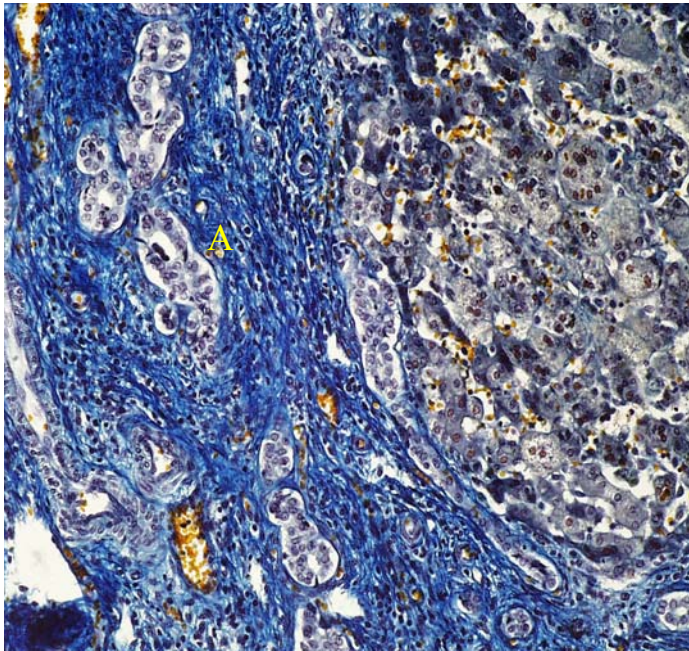


Abb.6
Region II (Fibroseplatte): Zentral sind Primäre Gallengänge (A) in unmittelbarer Nachbarschaft eines großen Gefäßes erkennbar. Entlang der Parenchym-Fibrosegrenze liegen Gangproliferate (B), die durch schmales Bindegewebe vom Parenchym getrennt sind. Beachte die Kanalikuläre Cholestase.
HOPA, 12,5x

Die Primären Gallengänge der Glisson'schen Dreiecke zeigen ein kubisches Epithel, meist ist ein Lumen erkennbar (Abb.5). Zum Teil lassen sich Vakuolen im Epithel des Gallenganges nachweisen (Abb.9). Das Lumen dieser Primären Gallengänge ist unterschiedlich groß (Tab.2).

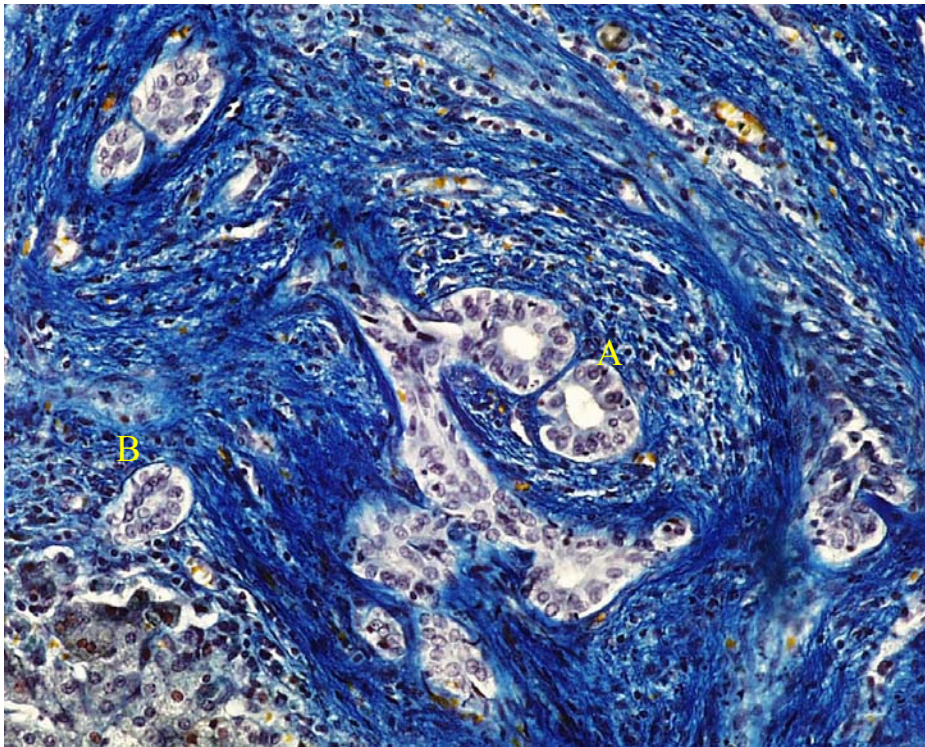


Abb.7
Region II (Fibroseplatte), Primäre Gallengänge (A) mit kubischem Epithel, umgeben von dichtem Bindegewebe an der Übergangszone von hilärer Fibroseplatte zu Parenchym; Gangproliferat (B) nahe des Parenchyms
HOPA, 12,5x

In Region II (Fibroseplatte) können Primäre Gallengänge meistens entlang der gesamten Parenchym- Fibrosegrenze sowohl der lateralen und medialen Bereiche nachgewiesen werden. Manchmal (Patient Nr.4 und 9) lassen sie sich nur im medialen Bereich nachweisen und die lateralen Regionen sind gangfrei. Bei stark ausgeprägter Fibrosierung der Leberpforte und des Leberparenchyms liegen meist nur wenige Primäre Gallengänge in Region II vor (Patient 7, Tab.8).

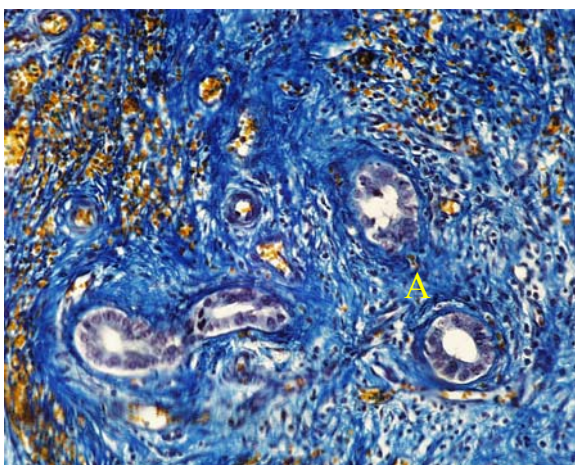


Abb.8
Primäre Gallengänge (A) in Region II (Fibroseplatte), umgeben von dichtem Bindegewebe, mit Lage in unmittelbarer Nachbarschaft portaler und arterieller Gefäße;
HOPA, 12,5x

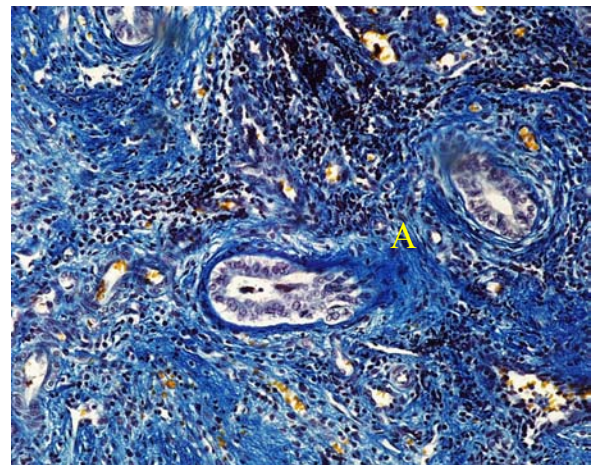


Abb.9
Primäre Gallengänge in Region II (Fibroseplatte), Vakuolisierung des Gangepithels; granulo- und lymphozytäre Infiltration des dichten Bindegewebes. HOPA, 12,5x

4.2.1. Anzahl und Gesamtfläche (μm^2) der Primären Gallengänge in Region II (Fibroseplatte) und III (Übergangszone)

Nach der morphologischen Zuordnung der Gallengangsstrukturen zur Kategorie der Primären Gallengänge werden metrische Untersuchungen durchgeführt. In einem ersten Untersuchungsschritt wird die Anzahl und die Gesamtfläche der Primären Gallengänge in den Regionen II und III bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von $2\frac{1}{2}$ bis $7\frac{1}{2}$ Wochen waren, bestimmt. Ausgewertet wurde innerhalb der Region II und III die sog. distale und proximale Übergangszone im Bereich der Leberpforte (Skizze 1).

Die Befunde wurden in Tabelle 1 und 2 nach dem Alter zum Zeitpunkt der Operation aufgelistet.

a) Anzahl der Primären Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone)

Bei allen 11 Patienten können in der Region II Primäre Gallengänge nachgewiesen werden, im Durchschnitt 12 mit einer Streuung von 5-17. Mit zunehmendem Alter der Patienten kann eine Abnahme der Anzahl Primärer Gallengänge erkannt werden, die bei Patient 10 und 11 allerdings wieder zunimmt. Der Unterschied ist im Hinblick auf das Alter zwar tendenziell, aber nicht signifikant.

In Region III liegen nur 0-2 Primäre Gallengänge vor. 5 Patienten zeigen überhaupt keine Primären Gallengänge in Region III. Auch hier lässt sich bezüglich der Anzahl der Primären Gallengänge keine Abnahme mit zunehmendem Alter erkennen.

Wie die tabellarische Zusammenfassung (Tab.1) zeigt, besteht auch keine Korrelation der Anzahl Primärer Gallengänge in Region II und III.

Patienten	Alter(Wochen)	Region II	Region III
1	2 ½	16	1
2	3 ½	15	2
3	3 ½	17	0
4	4 ½	5	1
5	4 ½	14	2
6	5 ½	9	0
7	5 ½	9	2
8	5 ½	9	0
9	7	9	0
10	7	15	1
11	7 ½	11	0
Mean	-	12	1
Std Dev	-	4	1

Tab.1

Anzahl der Primären Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone), aufgelistet nach dem Alter der Patienten (in Wochen) zum Zeitpunkt der Operation.

b) Gesamtfläche (μm^2) der Primären Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone)

Die Daten der Patienten wurden auch in der Tabelle 2 nach dem Alter zum Zeitpunkt der Operation geordnet. Zusätzlich wurde für jede Region der Durchmesser der Gallengänge (μm) bestimmt. Anschließend wurden der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet.

Patienten	Alter (Wochen)	Region II (μm^2)	Ø (μm)	Region III (μm^2)	Ø (μm)
1	2 ½	25813.92	513.55	1844.30	587.06
2	3 ½	17765.60	377.00	1940.00	308.76
3	3 ½	23246.66	435.27	0.00	0.00
4	4 ½	3747.54	238.57	356.25	113.4
5	4 ½	16222.52	368.84	2474.25	393.79
6	5 ½	12949.58	458.00	0.00	0.00
7	5 ½	8172.99	289.06	1333.68	212.26
8	5 ½	12667.60	448.02	0.00	0.0
9	7	9198.39	325.33	0.00	0.0
10	7	15114.57	320.74	977.43	311.13
11	7 ½	10699.60	309.62	0.00	0.0
Mean	-	14150.00	375.34	811.40	258.28
Std Dev	-	6489.00	-	943.70	-

Tab.2

Bestimmung von Gesamtfläche (μm^2) und Durchmesser(μm) der Primären Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone) bei 11 Patienten

In Region II liegt die Gesamtfläche der Primären Gallengänge im Bereich von 3747,54-25813,92 μm^2 . Die größte Gesamtfläche kann bei Patient 1, dem jüngsten Patienten, nachgewiesen werden (=25813,92 μm^2). Mit zunehmendem Alter zeigt sich eine

Abnahme der Fläche, wobei der niedrigste Wert bei Patient 4 zu erkennen ist ($=3747,54 \mu\text{m}^2$). Die Patienten 6-11 zeigen eine ähnliche Gesamtfläche. Bei der Betrachtung der Gesamtfläche der Patienten 1-11 fällt auf, dass die Fläche der Primären Gallengänge von 1-11, also mit zunehmendem Alter kleiner wird, dieser Befund aber nicht kontinuierlich ist. Der Flächenunterschied liegt bei $7000 \mu\text{m}^2$ ($=8172,99 - 15114,57$). Bei den Patienten 1- 5 liegt dieser Wert bei $22000 \mu\text{m}^2$ ($=3747,54 - 25813,92 \mu\text{m}^2$). Patient 4 hat die kleinste Gesamtfläche und geringste Anzahl der Gallengänge.

In Region III liegt die Gesamtfläche der Primären Gallengänge im Bereich von $0 - 2474,25 \mu\text{m}^2$, eine kontinuierliche Zunahme mit zunehmendem Alter lässt sich nicht beobachten.

Eine kontinuierliche Größenabnahme des Durchmessers der Primären Gallengänge, bezogen auf das Alter von $2\frac{1}{2} - 7\frac{1}{2}$ Wochen, lässt sich bei den Patienten nicht erkennen. Die zahlreichsten Primären Gallengänge und den größten Durchmesser in Region II und III hat allerdings Patient 1, der jüngste Patient ($513,55 \mu\text{m} / 587,06 \mu\text{m}$).

Das Lumen der Primären Gallengänge in Region II und III ist ähnlich. Somit weisen intra- und extrahepatische Gallengänge ein ähnliches Kaliber auf. Das Lumen ist unabhängig von der Anzahl Primärer Gallengänge, bei wenigen und zahlreichen Primären Gallengänge in Region II und III liegt ein ähnliches Lumen vor.

4.3. Morphologie der duktulären Proliferate

Duktuläre Proliferate sind Gallengangsstrukturen, die erst im zeitlichen Verlauf der EHGA und Cholestase entstehen. In der sog. hilären Fibroseplatte (Region II) liegen die duktulären Proliferate meist entlang der gesamten Parenchym- Fibrosegrenze, in geringem Abstand zu dieser Grenze, umgeben von schmalem Bindegewebe (Abb.10 und 14). Bei 2 Patienten (Nr.4 und 9) waren in den lateralen Bereichen keine Proliferate vorhanden. Bei 2 anderen Patienten (Nr.1 und 10) sind im dichten Bindegewebe der Fibroseplatte auch weiter distal in Richtung des obliterierten Gallengangs (Region II) Proliferate erkennbar. 10-15% der Proliferate weisen eine Verbindung zu den Parenchymzellbalken auf.

Die Proliferate haben ein kubisches Epithel und zeigen meist ein Lumen.

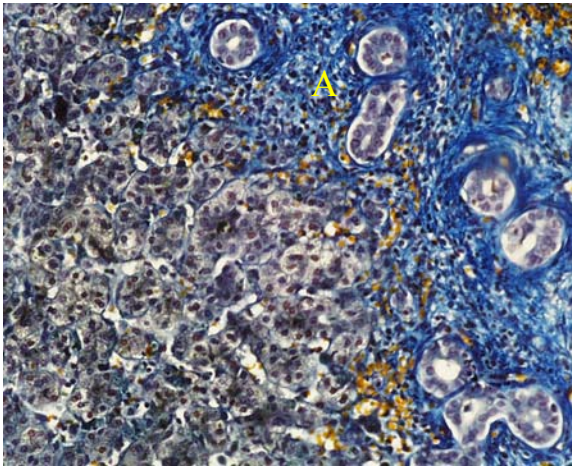


Abb.10
Duktuläre Proliferate (A), umgeben von Bindegewebe, entlang der Parenchym- Fibrosegrenze in Region II (Fibroseplatte), es ist keine Verbindung zum Parenchym erkennbar. Kanalikuläre Cholestase. HOPA, 12,5x

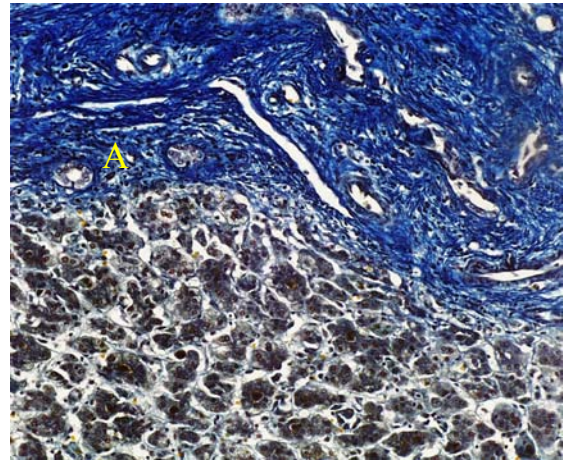


Abb.11
Region II (Fibroseplatte)/ III (Übergangszone) mit wenigen Proliferaten (A) entlang der Parenchym- Fibrosegrenze; Kanalikuläre Cholestase
HOPA 12,5x

Bei septaler Fibrose sind auch in den Septen zahlreiche Proliferate zu erkennen, die im Bindegewebe aber meistens am Rand zum Parenchym liegen (Abb.12). Zum Teil weisen auch diese Proliferate eine Verbindung zum Parenchym auf (Abb.13). Einige Proliferate liegen mitten in den Septen, umgeben von Bindegewebe (Abb.12). In breiten Fibrosesepten lassen sich zahlreiche Proliferate erkennen (Abb.15). Einige Proliferate der Fibrosesepten lassen eine Verbindung zu den Proliferaten der hilären Fibroseplatte erkennen (Abb.15).

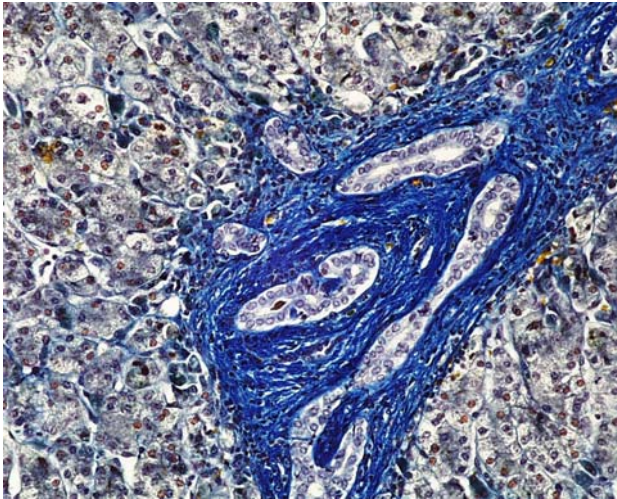


Abb.12 Ins Parenchym einsprossende Fibrosesepten in Region III (Übergangszone) mit zahlreichen Gangproliferaten; HOPA, 12,5x

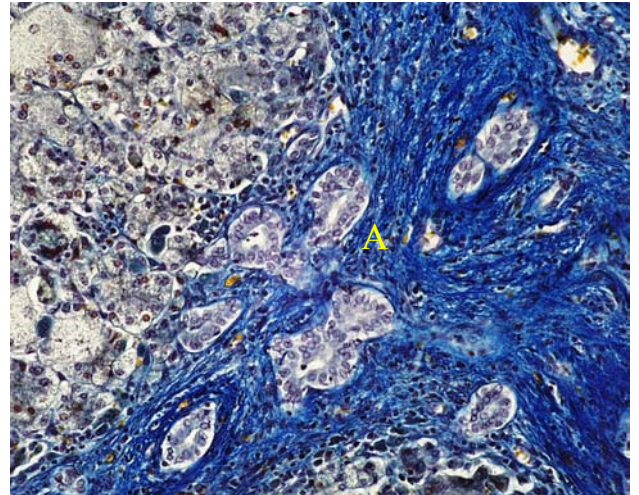


Abb.13 Gangproliferate (A) in einem in das Parenchym einsprossenden Fibroseseptum. Einige Proliferate weisen eine Verbindung zum Parenchym auf. HOPA, 12,5x

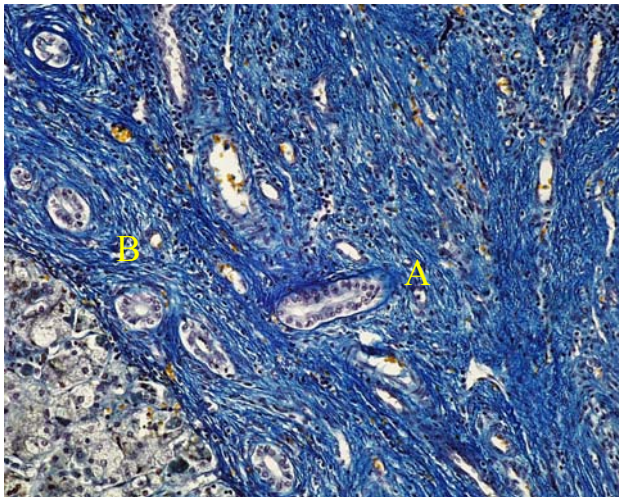


Abb.14 Region II (Fibroseplatte) am Übergang zum Parenchym. Zentral großer Primärer Gallengang (A) im dichten Bindegewebe nahe eines großen Gefäßes. Zahlreiche Proliferate (B) entlang der Parenchym-Fibrosegrenze. HOPA, 8x

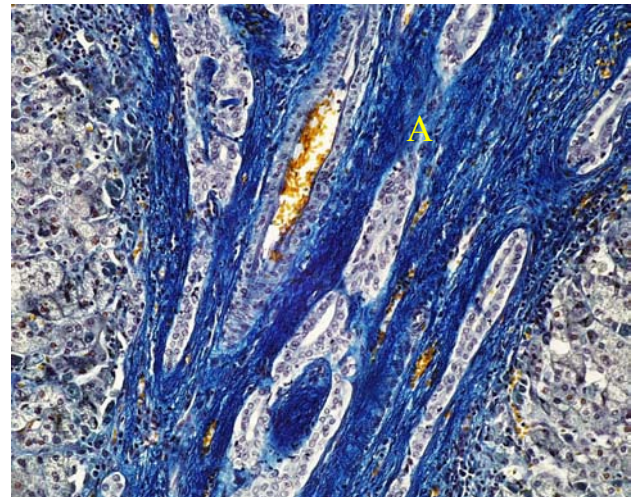


Abb.15 Fibroseseptum in Region III (Übergangszone) mit Proliferaten (A) in unmittelbarer Nachbarschaft zu dem Gefäß und entlang der Grenze zum Parenchym. HOPA, 12,5x

Die periportalen Felder zeigen bei fortgeschrittener EHGA eine deutliche bindegewebige Verbreiterung. In den Periportalfeldern liegt die normal angelegte Glisson'sche Trias. Am Rande der Glisson'schen Trias liegen konzentrisch angeordnet Proliferate, die durch dichtes Bindegewebe von der Glisson'schen Trias getrennt sind. Bei einigen dieser Proliferate lässt sich eine Verbindung zum Parenchym erkennen, von dem sie sich abschnüren (Abb.12 und 13).

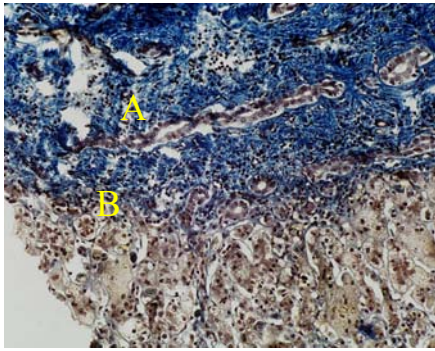


Abb.16
Duktuläre Proliferate (A) entlang der
Parenchym- Fibrosegrenze (B); z.T. mit
Verbindung zum Parenchym;
HOPA 8x

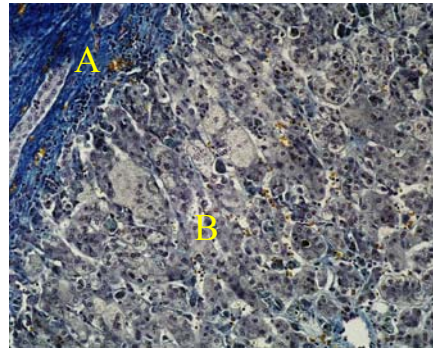


Abb.17
An ein Fibroseseptum grenzendes Parenchym in
Region III, Proliferate (A) entlang des
Parenchyms; kanalikuläre Cholestase (B); HOPA
12.5x

Auch in der hilären Fibroseplatte lassen sich zahlreiche Proliferate erkennen, wenn im Parenchym eine starke septale Fibrosierung sowie eine bindegewebige Verbreiterung der Glisson'schen Trias erkennbar ist. Im Parenchym liegen bei diesen Patienten (Nr.1 und 10) zahlreiche Proliferate vor.

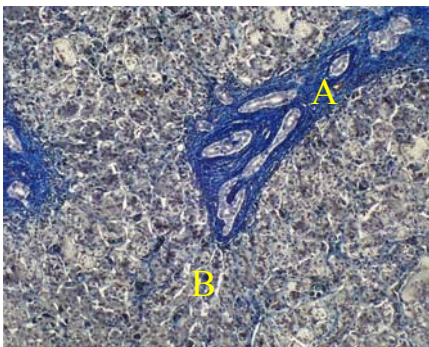


Abb.18 Fibroseseptum (A) in Region III
mit zahlreichen Proliferaten; von dem
Septum sprosst schmales Bindegewebe
ins Parenchym ein (B). HOPA 8x

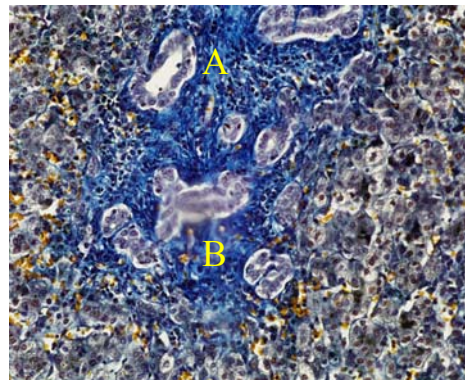


Abb.19 Fibroseseptum in Region III mit
Proliferaten (A) und Vorstufen der
Gallengänge (B), die sich vom
Parenchym abschnüren. HOPA 12,5x

Ebenso können bei starker septaler Fibrosierung mit breiten Fibrosesepten und Ausbildung von Pseudolobuli zahlreiche Proliferate im dichten Bindegewebe vorliegen und dazu im dichten Bindegewebe der hilären Fibroseplatte wenige Proliferate.

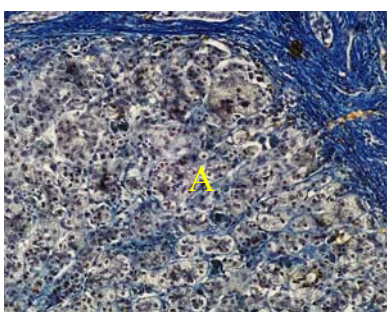


Abb.20
Parenchym- Fibrosegrenze (Region II/III) schmales Bindegewebe
sprosst aus der Fibroseplatte ins Parenchym ein (A), hepato-
zelluläre Cholestase, HOPA 12,5x

4.3.1. Anzahl und Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsproliferate in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone)

In einem weiteren Untersuchungsschritt wird die Anzahl und die Gesamtfläche der Proliferate in den Regionen II und III bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von $2\frac{1}{2}$ bis $7\frac{1}{2}$ Wochen waren, bestimmt. Ausgewertet wurden für die Berechnung von Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge in Region II und III die distale und proximale Übergangszone (Skizze 1).

Die Patienten werden in Tabelle 3 und 4 nach dem Alter zum Zeitpunkt der Operation eingeordnet. Zusätzlich wird für Region II und III der Durchmesser der Gallengänge (μm) bestimmt.

a) Anzahl der Gallengangsproliferate in Region II und III

Bei allen Patienten konnten dukuläre Proliferate in Region II nachgewiesen werden, mit einer Streuung von 19 bis 46 (Tab.3). Das Maximum liegt bei 46 Gängen (Patient 7). Eine Altersabhängigkeit kann im Hinblick auf die Zahl der Gallengangsproliferate nicht festgestellt werden.

Alle Patienten haben auch Proliferate in Region III mit einer Streuung von 5 bis 26 (Tab.3). Die Anzahl der Proliferate in Region III ist in allen Präparaten kleiner als die in Region II (Ausnahme Patient 8).

Proliferate	Alter (Wochen)	Region II	Region III
1	$2\frac{1}{2}$	36	19
2	$3\frac{1}{2}$	25	17
3	$3\frac{1}{2}$	27	26
4	$4\frac{1}{2}$	19	5
5	$4\frac{1}{2}$	25	17
6	$5\frac{1}{2}$	30	12
7	$5\frac{1}{2}$	46	13
8	$5\frac{1}{2}$	20	26
9	7	30	7
10	7	29	13
11	$7\frac{1}{2}$	32	24
Mean	-	29	16
Std Dev	-	8	7

Tabelle 3
Anzahl der Proliferate in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone) der Leberpforte, aufgelistet nach dem Alter der Patienten (in Wochen) zum Zeitpunkt der Operation.

b) Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsproliferate in Region II und III

Die Daten der Patienten wurden in der Tabelle 4 wieder nach dem Alter zum Zeitpunkt der Operation eingeordnet. Für jede Region wurde der Durchmesser der Gallengänge (μm) bestimmt.

Proliferate	Alter (Wochen)	Region II (μm^2)	\emptyset (μm)	Region III (μm^2)	\emptyset (μm)
1	2 ½	51066.08	451.52	22485.70	376.7
2	3 ½	24550.86	312.59	19303.10	361.43
3	3 ½	21546.02	254.01	21700.89	265.68
4	4 ½	15033.00	251.85	2553.63	162.57
5	4 ½	23392.51	297.84	14575.21	272.9
6	5 ½	29997.82	318.28	12901.60	342.22
7	5 ½	33443.89	231.42	6534.93	160.0
8	5 ½	14319.29	227.9	20921.43	256.13
9	7	26657.42	282.84	4655.56	211.7
10	7	26399.31	289.76	11300.32	276.7
11	7 ½	19733.61	196.3	12364.92	164.0
Mean	-	26010.00	285.5	13570.00	269.96
Std Dev	-	10120.00	-	7006.00	-

Tabelle 4
Gesamtfläche (μm^2) und Durchmesser (μm) der Proliferate in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone) aufgelistet nach dem Alter der Patienten (in Wochen) zum Zeitpunkt der Operation.

In Region II liegt die Gesamtfläche der duktilären Proliferate im Bereich von 14319,29-51066,08 μm^2 . Patient 1, der jüngste Patient, hat die größte Gesamtfläche und die 2.-größte Anzahl der Proliferate in Region II und III. Der Wert der Gesamtfläche von Patient 1 liegt fast 18000 μm^2 höher als der zweitgrößte Wert (Patient 7) mit den meisten Proliferaten in Region II.

Auch in Region III hat der Patient 1 die größte Gesamtfläche der Proliferate.

Der älteste Patient (Patient 11) hat die 3.-größte Anzahl der Proliferate in Region II und die 2.-größte in Region III.

Die Gesamtfläche der Gallengangsproliferate in Region III ist fast immer kleiner als in Region II. Die ersten 3 Patienten haben jeweils eine Fläche größer als 20000 μm^2 , im zeitlichen Verlauf von 2½- 7½ Wochen nimmt die Größe der Fläche ab, Patient 8 stellt eine Ausnahme von dieser Regel dar.

Die Proliferate in Region II und III sind im Durchschnitt ähnlich groß (285,5 μm /269,96 μm). Den größten Durchmesser der Proliferate hat Patient 1 in Region II (451,52 μm) und III (376,7 μm), den kleinsten Durchmesser hat der älteste Patient (Nr.11), dazwischen schwanken die Werte ohne korrelative Tendenz. Patient 1 hat zahlreiche (36) große Proliferate in Region II. Patient 7, der in Region II die höchste

Anzahl an Proliferaten hat, zeigt relativ kleine Gallengänge (231,42µm). Dieser Patient zeigt auch in Region III die kleinsten Gallengänge (160,0µm).

Im Gegensatz zu den Primären Gallengängen können zahlreiche Proliferate in Region II vorliegen, die einen sehr unterschiedlichen Durchmesser aufweisen. Es gibt Patienten (Patient Nr.1,2 und 6) mit zahlreichen Proliferaten mit einem großen Gangdurchmesser (451,52µm) und Patienten (Patient 7 und 11) mit zahlreichen Proliferaten und relativ kleinem Gangdurchmesser (231,42µm).

Es kann nicht festgestellt werden, dass zahlreiche Proliferate der Region II mit einem kleinen Proliferatdurchmesser korreliert sind.

4.4. Morphologie der Vorstufen der Gallengänge

Die Vorstufen der Gallengangsproliferate sind Gangstrukturen, die sich im Parenchym der Leberpforte nachweisen lassen. Sie liegen in den Fibrosesepten am Übergang vom

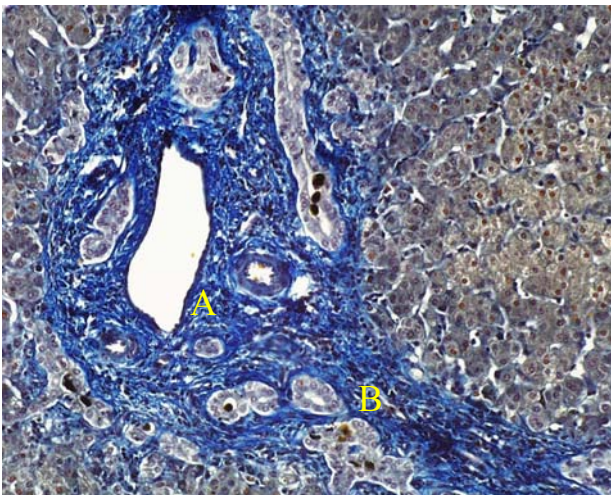


Abb.21 Periportalfeld (A) in Region IV (Parenchym) mit zahlreichen tubulusförmigen Vorstufen der Gallengänge (B) an der Grenze zum Parenchym, von dem sie sich abschnüren. HOPA, 12,5x

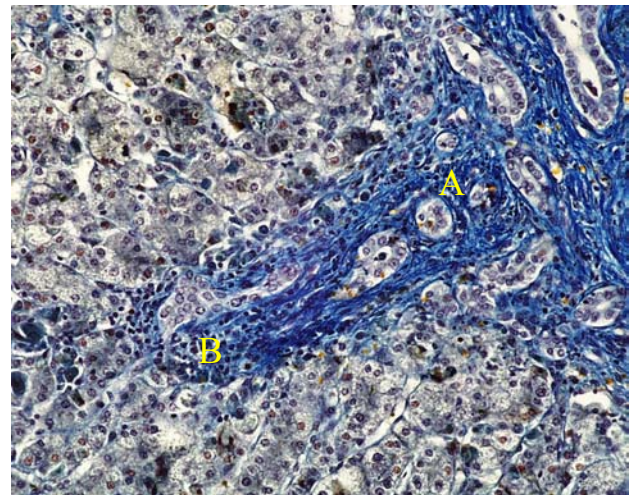


Abb.22 Ins Parenchym einstrahlendes Fibroseseptum in Region IV(Parenchym) mit duktulären Proliferaten (A) und Vorstufen der Gallengänge (B). Die Vorstufen weisen eine Verbindung zum Parenchym auf und scheinen sich von diesem abzuschließen. HOPA, 12,5x

Parenchym zum Bindegewebe, umgeben von schmalen Bindegewebe (Abb.22). Die Vorstufen zeigen eine clusterartige, rosetten- oder tubulusförmige Struktur (Abb.21). Ein Lumen ist nicht erkennbar. In einigen Fällen lässt sich die Abschnürung der Vorstufen von Zellen des Parenchyms erkennen (Abb.22 und 32). Im Grenzbereich der

Glisson'schen Trias liegen ebenfalls Vorstufen, die sich aus dem Parenchym abschnüren und z.T. eine Verzweigung aufweisen (Abb.21).

Patienten mit starker septaler Fibrose und breiten Fibrosesepten weisen zahlreiche Vorstufen auf.

Die Präparate zeigen, dass Vorstufen nur in Mesenchymnähe auftreten, entweder an der Parenchym-Periportalfeldgrenze oder, was pathogenetisch noch wichtiger ist, in der Nachbarschaft von Bindegewebe, das aus dem Periportalfeld ins Leberläppchen einsprosst.

4.4.1. Anzahl und Gesamtfläche der Vorstufen der Gallengangsproliferate in

Region II und III

Anschließend wurden die Anzahl, die Gesamtfläche und die Durchmesser (μm) der Vorstufen der Gallengangsproliferate in den Regionen II und III, im Bereich der distalen und proximalen Übergangszone, der 11 Patienten bestimmt (Skizze 1). Die Daten wurden in den Tabellen 5 und 6 nach dem Alter zum Zeitpunkt der Operation eingeordnet.

a) Anzahl der Vorstufen der Gallengangsproliferate in Region II und III

In Region II lassen sich bei keinem Patienten Vorstufen der Gallengänge nachweisen (Tab.5).

In Region III haben alle Patienten Vorstufen der Gallengänge mit einer Streuung von 5 bis 33. Die meisten Vorstufen hat der jüngste Patient mit 33 (Patient 1). Mit zunehmendem Alter kann eine Abnahme der Anzahl der Vorstufen der Gallengänge erkannt werden, die bei den Patienten 10 und 11 allerdings wieder zunimmt. Somit läßt sich keine korrelative Tendenz der Anzahl mit dem Patientenalter erkennen.

Vorstufen	Alter(Wochen)	Region II	Region III
1	2 ½	0	33
2	3 ½	0	17
3	3 ½	0	19
4	4 ½	0	23
5	4 ½	0	5
6	5 ½	0	18
7	5 ½	0	14
8	5 ½	0	18
9	7	0	15
10	7	0	21
11	7 ½	0	22
Mean	-	0	19
Std Dev	-	0	7

Tabelle 5
Anzahl der Vorstufen der Gallengänge in den beiden Regionen nach Unterteilung der Leberpforte in Region II (distale Übergangszone) und Region III (proximale Übergangszone), aufgelistet nach dem Alter der Patienten (in Wochen) zum Zeitpunkt der Operation.

b) Gesamtfläche (μm^2) der Vorstufen der Gallengangsproliferate in Region II und III

Gesamtfläche und Durchmesser (μm) der Vorstufen der Gallengangsproliferate werden in Tabelle 6 zusammengefasst. Ein Lumen war bei den Vorstufen der Gallengangsproliferate nicht erkennbar, so dass der Durchmesser der Gallengänge nur durch das Epithelcluster bestimmt wird.

Vorstufen	Alter (Wochen)	Region II (μm^2)	Region III (μm^2)	\emptyset (μm)
1	2 ½	0	23565,16	227,3
2	3 ½	0	11757,87	220,16
3	3 ½	0	9955,2	166,78
4	4 ½	0	9412,91	130,39
5	4 ½	0	2567,75	163,47
6	5 ½	0	7373,32	130,39
7	5 ½	0	6664,24	151,52
8	5 ½	0	9523,95	168,42
9	7	0	8862,84	188,08
10	7	0	13468,48	204,15
11	7 ½	0	9648,38	139,6
Mean	-	0	10250,00	175,15
Std Dev	-	0	5231,00	-

Tabelle 6
Gesamtfläche (μm^2) und Durchmesser (μm) der Vorstufen der Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) und III (proximale Übergangszone), aufgelistet nach dem Alter der Patienten.

In Region III weist die Gesamtfläche Werte zwischen 2567,75 und 23565,16 μm^2 auf. Die größte Gesamtfläche der Vorstufen hat wiederum Patient 1, sie ist fast doppelt so groß wie die zweitgrößte Gesamtfläche (Patient 10). Mit zunehmendem Alter kann eine Abnahme der Fläche bis Patient 5 beobachtet werden, anschließend wieder Zunahme der Gesamtfläche auf Werte wie bei den Patienten 2-4 (9412,91- 11757,87 μm^2). Die Werte der Gesamtfläche der Patienten 2-11 schwanken im Bereich von 6664,24-13468,48 μm^2 mit Ausnahme von Patient 5. Somit konnte keine Korrelation von Gesamtfläche der Vorstufen der Gallengangsproliferate und dem Alter der Patienten festgestellt werden.

Die metrisch größten Vorstufen lassen sich bei Patient 1 & 2 erkennen. Bei der Größe der Gallengänge lässt sich, wie bei der Gesamtfläche, ein Maximum bei Patient 1 feststellen, dann lässt sich bis Patient 7 eine Abnahme der Ganggröße beobachten, mit anschließender erneuter Größenzunahme, so dass keine Tendenz einer Korrelation Vorstufen/ Alter erkennbar ist.

Patient 5 hat die kleinste Gesamtfläche der Vorstufen. Im Vergleich mit den anderen Patienten hat dieser aber durchschnittlich große Gallengänge (513,55 μm^2).

Der Durchmesser der Vorstufen der Gallengänge in Region III liegt zwischen 130,39-227,3 μm . Alle Patienten weisen ähnlich große Vorstufen auf.

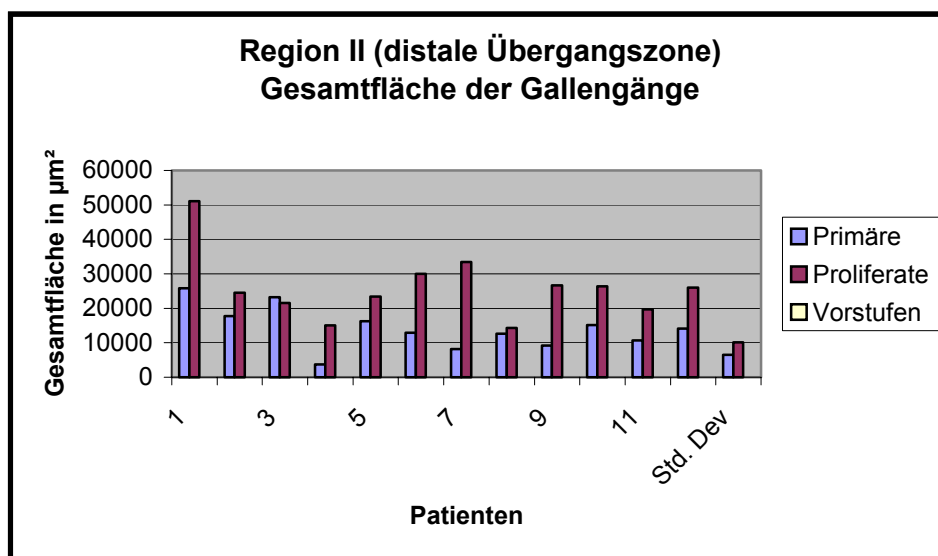
4.5. Vergleichende Betrachtung der Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsstrukturen (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II (Fibroseplatte)

Da für den Erfolg einer Hepatoportoenterostomie die distale Übergangszone der Leberpforte in Region II entscheidend ist, sollen die Gallengangsstrukturen dieser Region vergleichend bezüglich ihrer Gesamtfläche und Anzahl betrachtet werden (Regionenbeschreibung, Kap.3.11.2).

In der Tabelle 7 sowie in der Graphik 1 wurden die Gesamtflächen und die Anzahl der verschiedenen Gallengangsstrukturen (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge) in der distalen Übergangszone der Region II der Leberpforten der 11 Patienten in Beziehung gesetzt (Skizze 1).

Patienten	Alter (Wochen)	Primäre Gallengänge (μm^2)	Proliferate (μm^2)	Vorstufen (μm^2)
1	2 ½	25813,92	51066,08	0
2	3 ½	17765,60	24550,86	0
3	3 ½	23246,66	21546,02	0
4	4 ½	3747,54	15033,00	0
5	4 ½	16222,52	23392,51	0
6	5 ½	12949,58	29997,82	0
7	5 ½	8172,99	33443,89	0
8	5 ½	12667,60	14319,29	0
9	7	9198,39	26657,42	0
10	7	15114,57	26399,31	0
11	7 ½	10699,60	19733,61	0
Mean	-	14150,00	26010,00	0
Std. Dev	-	6489,00	10120,00	0

Tabelle 7
Gesamtfläche (μm^2) der Primäre Gallengänge, der Proliferate und der Vorstufen der Gallengänge in Region II (distale Übergangszone) bei Patienten im Alter von 2½ - 7½ Wochen.



Graphik 1
Gesamtfläche (μm^2) der Prim. Gallengänge, der Proliferate und der Vorstufen der Gallengänge in Region II bei Patienten im Alter von 2½ - 7½ Wochen.

Da in Region II keine Vorstufen vorlagen, müssen sie nicht berücksichtigt werden.

Die Proliferate haben in Region II bei allen Patienten eine größere Gesamtfläche als die Primären Gallengänge. Eine Ausnahme bildet Patient 3, indessen ist der Unterschied minimal. Die größte Gesamtfläche der Primären Gallengänge weisen die 3 jüngsten Patienten (Patient 1-3) auf.

Diese 3 Patienten unterscheiden sich durch die Gesamtfläche der Proliferate, die bei Patient 1 ($51066,08\mu\text{m}^2$) ungefähr 2x so groß ist, wie bei den beiden anderen Patienten ($24550,86$ und $21546,02\mu\text{m}^2$) in Region II.

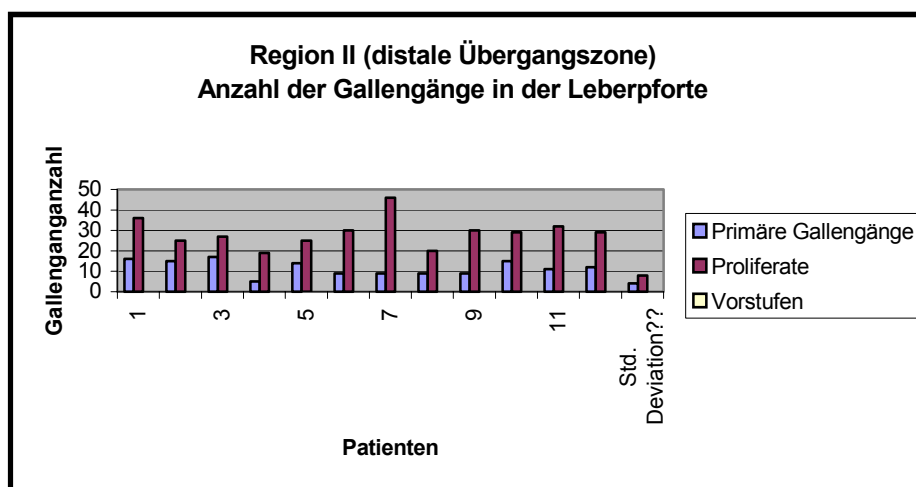
4.6. Vergleichende Betrachtung der Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II

Da für den Erfolg einer Hepatoportoenterostomie die distale Übergangszone der Leberpforte in Region II entscheidend ist, sollen die Gallengangsstrukturen dieser Region vergleichend bezüglich ihrer Gesamtfläche und Anzahl betrachtet werden (Regionenbeschreibung, Kap.3.11.2).

Anschließend wurde die Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge) in der Region II der Leberpforte bestimmt. Die Daten der Patienten wurden in Tabelle 8 und Graphik 2 eingetragen.

Patienten	Alter (Wochen)	Primäre Gallengänge	Proliferate	Vorstufen
1	2 ½	16	36	0
2	3 ½	15	25	0
3	3 ½	17	27	0
4	4 ½	5	19	0
5	4 ½	14	25	0
6	5 ½	9	30	0
7	5 ½	9	46	0
8	5 ½	9	20	0
9	7	9	30	0
10	7	15	29	0
11	7 ½	11	32	0
Mean		12	29	0
Std. Dev.		4	8	0

Tabelle 8
Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II bei Patienten im Alter von 2½ -7½ Wochen waren.



Graphik 2
Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II der Leberpforte bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von 2½ -7½ Wochen waren.

Die höchste Anzahl der Primären Gallengänge in Region II liegt bei den Patienten 1-3 vor. Im weiteren Verlauf zeigt sich eine Abnahme der Anzahl der Gallengänge ohne erkennbare Tendenz. Ebenso ist es bei den Proliferaten. Patienten im Alter von 7- 7½ Wochen weisen eine nahezu gleich große Anzahl wie die Patienten 1-3 auf. Die Abnahme der Anzahl der Gallengänge im zeitlichen Verlauf ist gering.

Schlussfolgerung aus 4.5 und 4.6:

1. Die größte Gesamtfläche der Primären Gallengänge weisen die 3 jüngsten Patienten (Patient 1-3) auf. Es zeigt sich eine Abnahme der Gesamtfläche mit zunehmendem Alter, die aber keine kontinuierliche Tendenz erkennen lässt.
2. Die größte Anzahl der Proliferate und Primären Gallengänge hat Patient 1 in Region II. Mit zunehmendem Alter zeigt sich eine Abnahme der Anzahl der Gallengänge, die aber keinen kontinuierlichen Verlauf zeigt. In Region II liegen 5-17 Primäre Gallengänge und keine Vorstufen vor.
3. Bei hochgradiger Fibrose liegen meist zahlreiche Proliferate in Region II vor. Eine Ausnahme bildet Patient 8, der bei hochgradiger Fibrose (Tab.17) eine relativ niedrige Anzahl an Proliferaten hat.
4. Bei geringer Fibrose liegen meist wenige Proliferate in Region II vor. Eine Ausnahme bildet Patient 5, der bei geringer Fibrose (Tab.17) eine hohe Anzahl an Proliferaten hat.
5. In einem Fall liegt die gleiche Anzahl von Primären Gallengänge und Proliferaten in Region II vor (Patient 6 und 9). Sie unterscheiden sich in Region III. Die Anzahl der Gallengänge bei Patient 6 ist höher als bei Patient 9. Patient 6 zeigte eine hochgradige portale Fibrose und breite Fibrosesepten im Parenchym. Patient 9 zeigte eine gering ausgeprägte septale Fibrose mit schmalen Septen.
6. 2 Patienten (Patient 1 und 3) zeigten bei hochgradiger portaler und septaler Fibrosierung unterschiedlich viele Proliferate in Region II (36/ 27) bei gleicher Anzahl der Primären Gallengänge. Beide Patienten zeigten im Parenchym zahlreiche Fibrosesepten und eine bindegewebige Verbreiterung der Portalfelder (z.T. Pseudolobulienbildung). Patient 3 zeigte im gesamten Parenchym weniger Proliferate und Vorstufen als der Patient 1.
7. Eine Teilnahme der Proliferate an der Galledrainage kann anhand der Histologie

abgeleitet werden. Es zeigt sich bei den Proliferaten keine Verbindung zu anderen Gallengangstrukturen und kein intraluminales Gallepigment im Vergleich zu Kanalikuli und Primären Gallengängen.

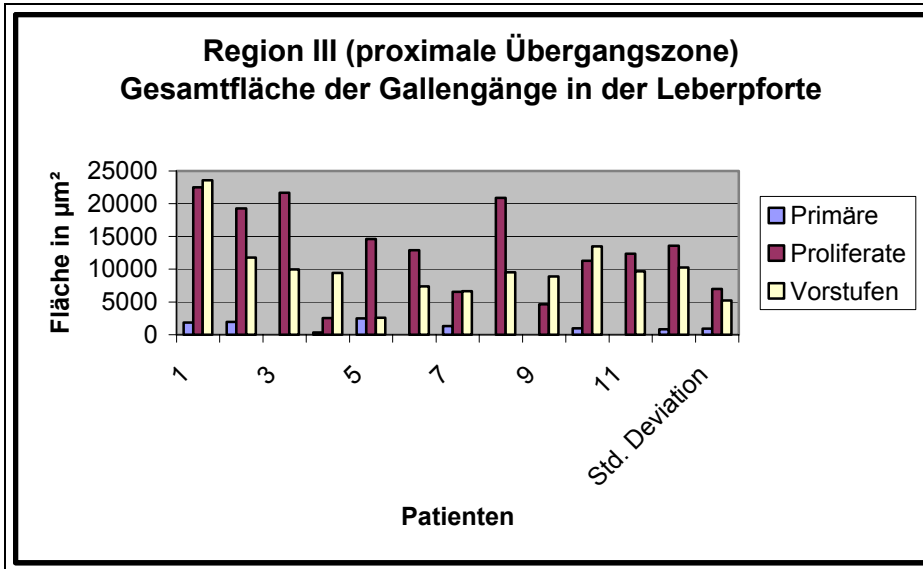
4.7. Vergleichende Betrachtung der Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsstrukturen (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region III (Übergangszone)

Da für den Erfolg einer Hepatoportoenterostomie auch die proximale Übergangszone der Leberpforte in Region III entscheidend ist, sollen die Gallengangsstrukturen dieser Region vergleichend bezüglich ihrer Gesamtfläche und Anzahl betrachtet werden (Regionenbeschreibung, Kap.3.11.2).

In der Tabelle 9, sowie in der Graphik 3 wurden die Gesamtflächen und die Anzahl der verschiedenen Gallengangsstrukturen (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge) in der Region III der Leberpforten der 11 Patienten in Beziehung gesetzt.

Patienten	Primäre Gallengänge (μm^2)	Proliferate (μm^2)	Vorstufen (μm^2)
1	1844,30	22485,70	23565,16
2	1940,00	19303,10	11757,87
3	0,00	21700,89	9955,2
4	356,25	2553,63	9412,91
5	2474,25	14575,21	2567,75
6	0,00	12901,60	7373,32
7	1333,68	6534,93	6664,24
8	0,00	20921,43	9523,95
9	0,00	4655,56	8862,84
10	977,43	11300,32	13468,48
11	0,00	12364,92	9648,38
Mean	811,40	13570,00	10250,00
Std. Dev.	943,70	7006,00	5231,00

Tabelle 9
Gesamtfläche (μm^2) der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region III (proximale Übergangszone), bei Patienten im Alter von 2½ -7½ Wochen.



Graphik 3
Gesamtfläche der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region III der Leberpforte bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von 2½ - 7½ Wochen waren.

Alle Patienten haben Vorstufen der Gallengänge in Region III. 5 Patienten haben keine Primären Gallengänge in Region III.

Die größte Gesamtfläche der Proliferate liegt bei Patienten 1,2,3 und 8 vor. Patient 1 hat die größte Gesamtfläche an Proliferaten und Vorstufen, sowie eine relativ große Gesamtfläche der Primären Gallengänge. Ein eindeutiger Zusammenhang von Gesamtfläche der Proliferate und dem postoperativen Gallefluss kann nicht festgestellt werden. Die Gesamtfläche der Proliferate ist bei Patienten im Alter von 2½- 3½ Wochen am größten. Es liegt keine kontinuierliche Abnahme der Gesamtfläche der Proliferate in Korrelation mit dem Patientenalter vor.

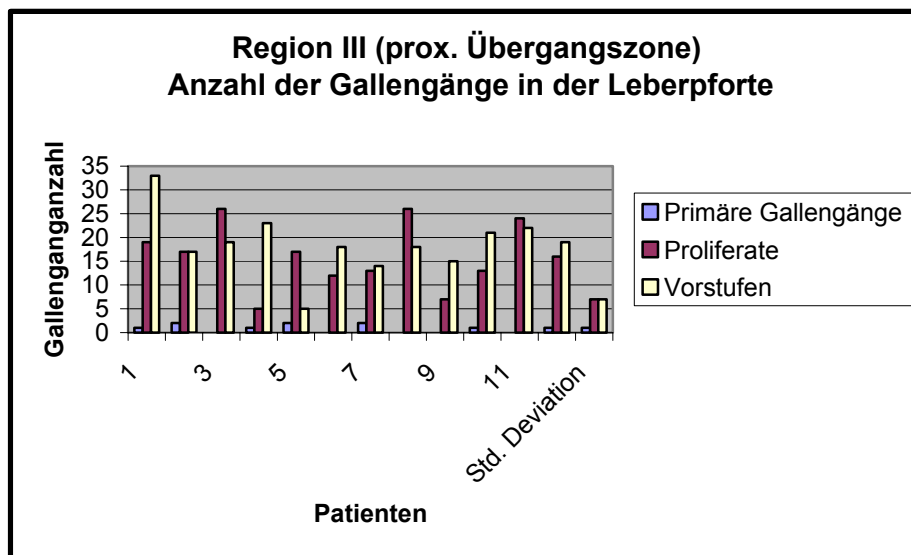
4.8. Vergleichende Betrachtung der Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region III

Da für den Erfolg einer Hepatoportoenterostomie die proximale Übergangszone der Leberpforte in Region III entscheidend ist, sollen die Gallengangsstrukturen dieser Region vergleichend bezüglich ihrer Gesamtfläche und Anzahl betrachtet werden (Regionenbeschreibung, Kap.3.11.2).

Anschließend wurde die Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge) in der Region III der Leberpforte bestimmt. Die Daten der Patienten wurden in Tabelle 10 und Graphik 4 eingetragen.

Patienten	Primäre Gallengänge	Proliferate	Vorstufen
1	1	19	33
2	2	17	17
3	0	26	19
4	1	5	23
5	2	17	5
6	0	12	18
7	2	13	14
8	0	26	18
9	0	7	15
10	1	13	21
11	0	24	22
Mean	1	16	19
Std. Dev.	1	7	7

Tabelle 10
Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region III der Leberpforte bei Patienten im Alter von 2½ - 7½ Wochen waren.



Graphik 4
Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region III der Leberpforte bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von 2½ - 7½ Wochen waren.

1. In Region III liegen 0-2 Primäre Gallengänge vor, ohne erkennbare Tendenz der Anzahl im zeitlichen Verlauf.
2. In Region II und III liegen bei allen Patienten weniger Primäre Gallengänge als Proliferate vor.

Schlußfolgerung:

1. Eine große Gesamtfläche der Primären Gallengänge liegt in Region III bei Patient 1 und 5 vor. Es zeigt sich eine Abnahme der Gesamtfläche mit zunehmendem Alter. Eine korrelative Tendenz ist aber nicht erkennbar.
2. Die Anzahl der Primären Gallengänge in Region III liegt zwischen 0-2. Eine korrelative Tendenz mit zunehmendem Alter ist ebenfalls nicht erkennbar.

3. Die Gesamtfläche der Proliferate ist bei Patient 1 am größten, sie nimmt mit zunehmendem Alter aber nicht kontinuierlich ab.
4. Die Anzahl der Proliferate in Region III ist bei Patient 1, 3 und 8 sehr groß. Hier lässt sich ebenfalls keine korrelative Tendenz zum Alter erkennen.
5. Dasselbe gilt für die Gesamtfläche und Anzahl der Vorstufen in Region III. Die größte Fläche und Anzahl weist Patient 1 auf, es lässt sich ebenfalls keine korrelative Tendenz bei zunehmendem Alter erkennen.
6. Die Primären Gallengänge bilden bezüglich Anzahl und Gesamtfläche die kleinste Gruppe in Region III.

4.9.Morphologie der Leberpforte von Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 15- 17

Die Leberpforte der Rattenembryonen wird von Mesenchym gebildet, das vom Vorderdarm her in Richtung Septum transversum, aus dem sich die Leber entwickelt, wächst. Die Entwicklung des hepatischen Divertikels und des extrahepatischen Gallengangsystems findet an den Entwicklungstagen 10-17 statt. Dieser Zeitraum entspricht den Carnegie Stadien 11-23 der Humanembryologie. Die Entwicklung des D. hepaticus, D.choledochus und der großen intrahepatischen Gallengänge findet in den Entwicklungstagen 12-17 statt, den Carnegie Stadien 16-23, die in dieser Arbeit genauer betrachtet wurden.

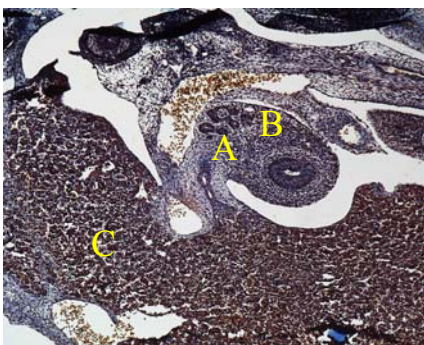


Abb. 23
Rattenembryo d15, Hepatisches Divertikel (A), in dem der spätere D.choledochus (B) erkennbar ist. Leberparenchym (C) und Anschnitt des Darmes sind erkennbar;
HOPA, 2,5x

Am 10. Entwicklungstag ist das hepatische Divertikel, das eine ventrale Ausbuchtung des Entoderms aus dem Vorderdarm darstellt, erkennbar. In diesem hepatischen Divertikel entwickeln sich die Gallenwege. Die Epithelzellen des hepatischen Divertikels sprossen in das Septum transversum ein, wodurch sich epitheliale

Leberzellbälkchen ausbilden (Abb.23). Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Größenzunahme der Lebermasse, erkennbar sind dann der D. venosus und die Umbilikalvene.

Am 12. Entwicklungstag zeigt sich im hepatischen Divertikel eine erweiterte Gangstruktur, die eine Verbindung des Vorderdarmes mit dem Leberparenchym herstellt.

Am 13. Entwicklungstag ist der D. hepaticus mit kleinem Lumen und sehr dicker Wand erkennbar. Äste des D. hepaticus bilden sich an den Kontaktstellen mit dem Leberparenchym.

Am 14. Entwicklungstag weisen die Äste des D. hepaticus eine enge Verbindung zum Bindegewebe des transversen Portalsinus auf.

Vom 15.–17. Entwicklungstag bildet sich das intrahepatische Gallengangssystem aus.

Am 15. Entwicklungstag entwickeln sich im periportalen Bindegewebe kuboidale Zellbälkchen zwischen Portalsinus und Leberparenchym, die sog. Gangplatte (Abb.23). Meist ist im hepatischen Divertikel ein Gallengang erkennbar, der eine Verbindung zum Darm erkennen läßt. Es liegt dichtes Leberparenchym mit Lebersinusoiden vor. Im Mesenchym zeigt sich der D. hepaticus mit kubischem Epithel, direkt daneben kann man ein großes Gefäß, die spätere Pfortader, erkennen. Im Mesenchym des Parenchymrandes sind Äste des D. hepaticus (die sog. Proliferate) mit kubischem Epithel erkennbar. Das Mesenchym sprosst nur in geringem Maß ins Parenchym ein (Abb.23 und 25).

Am 16. Entwicklungstag zeigen der D. hepaticus ein zylindrisches, seine Äste ein kubisches Epithel (Abb.26 und 28). An den Astenden erkennt man an den Kontaktstellen mit dem Leberparenchym eine Proliferation der Gallengänge ins periportale Mesenchym (Abb.26 und 28). Das Mesenchym sprosst sich weiter ins Parenchym vor. Ebenso ist das große zentrale Gefäß tiefer im Parenchym erkennbar, das von einem schmalen Bindegewebe umgeben ist. In diesem Bindegewebe liegen am Übergang zum Parenchym in enger Nachbarschaft zu den Gefäßästen Vorstufen von Gallengängen mit clusterartiger Struktur oder schmalen Epithel mit Lumen (Abb.28). Es lassen sich Vorstufen der Gallengänge entlang der Grenze von Mesenchym und Parenchym erkennen (Abb.28).

Das Leberparenchym weist zahlreiche Sinusoide auf.

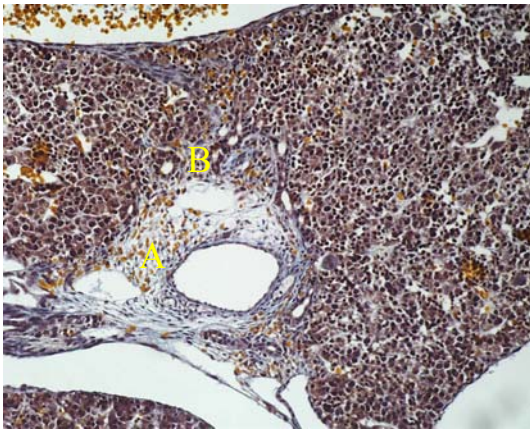


Abb. 24
Rattenembryo d17; Leberpforte mit zentralem Gefäß (A) und zahlreichen Gangstrukturen (B) an der Kontaktstelle von Parenchym und Mesenchym. HOPA, 8x

Am 17. Entwicklungstag ist das Mesenchym weiter ins Parenchym eingewandert. Im Mesenchym kann der D. hepaticus mit zylindrischem Epithel erkannt werden (Abb.24 und 29). Zusätzlich sind nun entlang der Kontaktstelle von Mesenchym und Parenchym zahlreiche Vorstufen der Gallengänge erkennbar, die ein kleines Lumen oder eine clusterartige Struktur aufweisen (Abb.24 und 29). Entlang des ins Parenchym ein-sprossenden Mesenchyms liegen zahlreiche Proliferate und Vorstufen der Gallengänge. In der Nähe dazu liegt das Portalgefäß. Das Leberparenchym enthält Lebersinusoide. Im Bindegewebe, das die Gefäße des Leberparenchym umgibt, lassen sich Vorstufen von Gallengängen erkennen, die die gleiche Struktur wie die Vorstufen der Gallengänge entlang der Kontaktstelle von Mesenchym und Parenchym aufweisen (Vorstufen der Gallengänge der 2. Generation, Abb.24 und 29).

4.9.1. Morphologie der Gallengänge bei Rattenembryonen an den Entwicklungs-tagen 15-17

Im Bereich des hepatischen Divertikels und der Leberpforte sowie des Leber-parenchym lassen sich Primäre Gallengänge, Gallengangsproliferate und Vorstufen der

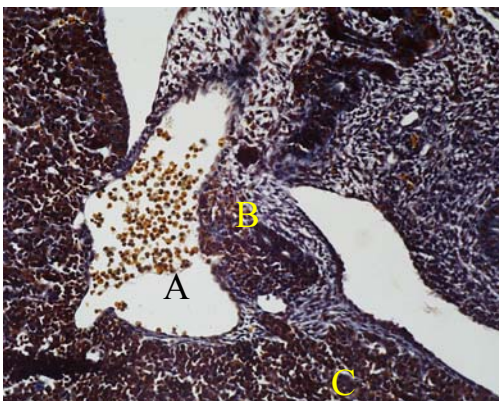


Abb.25
Rattenembryo d 15; zentral liegt das portale Gefäß (A), im Mesenchym daneben liegt ein primärer Gallengang (B), Vorstufen der Gallengänge der 1. Generation (C) sind am Übergang zum Parenchym erkennbar; HOPA, 12,5x

Gallengangsproliferate der 1. und 2. Generation erkennen. Folgende Einteilungskriterien gelten für diese Gallengangsstrukturen:

Primäre Gallengänge sind bei Rattenembryonen der *D. hepaticus* und seine Äste im Bereich des Mesenchyms der Leberpforte und der Glisson'schen Trias (Abb.25 und 28).

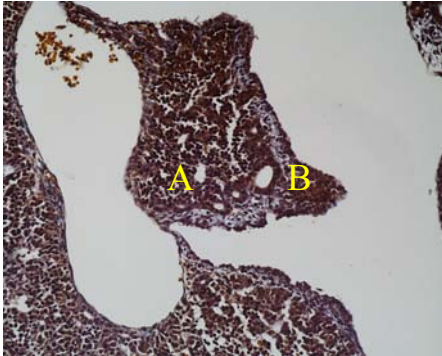


Abb.26
Rattenembryo d16; „Proliferate (A) entlang der Mesenchym-Parenchymgrenze, mit Lumen, zentral große Vene; Vorstufen der Gallengänge der 1. Generation (B) tiefer im Parenchym an der Kontaktstelle zum Mesenchym; HOPA 12,5x

Sie haben kubisches Epithel, zeigen ein Lumen und sind umgeben von Bindegewebe. In unmittelbarer Nachbarschaft befindet sich das Portale Gefäß. Es läßt sich im hepatischen Divertikel eine Verbindung der Gallengänge vom Darm zum Leberparenchym erkennen (Abb.23).

„Proliferate“ sind Gallengangstrukturen, die sich aus Leberzellbälkchen bilden. Sie befinden sich in der Leberpforte am Übergang von Mesenchym zu Parenchym. Sie liegen nahe am Parenchym oder haben Kontakt mit diesem und sind von wenig Mesenchym umgeben (Abb.27,28 und 29). Diese Gangstrukturen zeigen ein Lumen und haben kubisches Epithel. Es liegt kein größeres Gefäß in unmittelbarer Nähe. Am Entwicklungstag 17 sprosst das Mesenchym weiter ins Parenchym ein. Entlang dieses Mesenchyms sind Proliferate an der Kontaktgrenze zum Parenchym erkennbar (Abb.24).

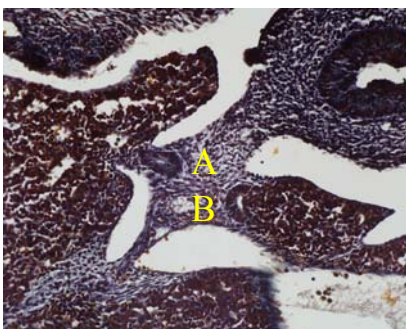


Abb.27 Rattenembryo d15
Hepatisches Divertikel (A) am Übergang vom Mesenchym zum Parenchym; Proliferate (B) sind an diesem Übergang erkennbar. HOPA 12,5x

Vorstufen der 1. Generation lassen sich an den Entwicklungstagen 15-17 im Bereich der Leberpforte nachweisen. Diese Gallengänge liegen im Parenchym am Rande zum Mesenchym und zeigen eine clusterartige Struktur. Zum Teil liegen diese Strukturen entlang der Mesenchym- Parenchymgrenze und zeigen ein schmales Epithel mit kleinem Lumen.

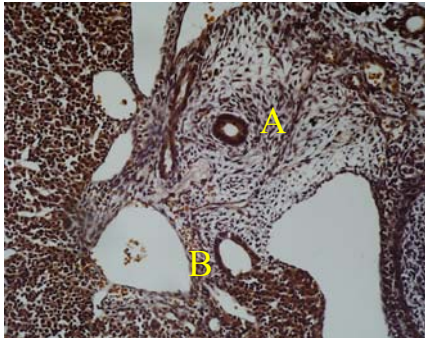


Abb. 28
Rattenembryo d16, Primärer Gallengang (A) im hepatischen Divertikel (D.choledochus); Proliferate der Gallengänge (B) sind an der Kontaktstelle zum Parenchym erkennbar;
HOPA 12,5x

Vorstufen der 2. Generation lassen sich v.a. am 17. Entwicklungstag nachweisen. Es

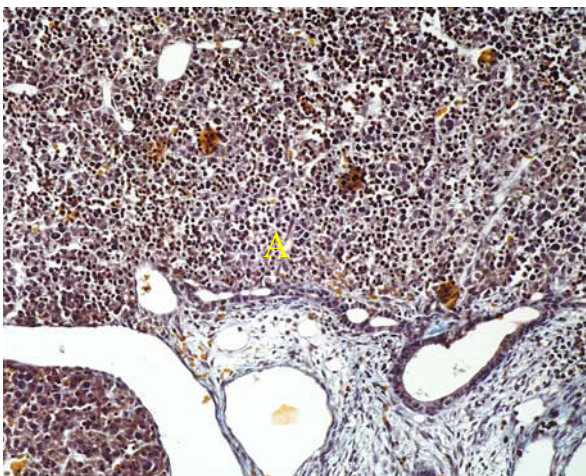


Abb.29
Rattenembryo d17, zahlreiche Gallengangstrukturen (mit Lumen) sind an der Kontaktstelle von Mesenchym und Parenchym erkennbar (A);
HOPA 12,5x

sind ebenfalls clusterartige Strukturen und Gallengänge mit schmalem Epithel, die an der Kontaktgrenze von Mesenchym und Parenchym liegen. Die Gallengänge der 2. Generation liegen tiefer im Parenchym und sind dort im schmalen Bindegewebe, das größere Gefäße umgibt, lokalisiert (Abb.24).

4.10. Vergleich der Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und der Leberpforte von Rattenembryonen

Die Entwicklung des Gallengangsystems findet bei Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 10-17 statt. Der D. hepaticus und die intrahepatischen Gallengänge entstehen an den Entwicklungstagen 12-17, die den Carnegie Stadien 16-23 entsprechen. Die Histologie der Leberpforte bei EHGA wurde mit der Histologie der Leberpforte der Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 15- 17 verglichen.

In diesem Zeitraum sprosst vom Darm das sog. Hepatische Divertikel, ein aus Mesenchym und Epithel bestehender Gewebestrang, aus. Im zeitlichen Verlauf entwickeln sich in diesem Hepatischen Divertikel die extrahepatischen Gallengänge, die eine Verbindung zwischen Darm und der Parenchymanlage, dem Septum transversum, herstellen.

Die Leberpforte der EHGA zeigt das Gallengangsrudiment von reichlich Bindegewebe umgeben, die hiläre Fibroseplatte und angrenzendes Leberparenchym mit teilweise hochgradiger septaler Fibrose (Abb.4). In der hilären Fibroseplatte liegen Primäre Gallengänge, Proliferate, Arterien und Venen. Das Gallengangsrudiment ist der obliterierte D. choledochus, der von dichtem Bindegewebe umgeben ist.

Die Leberpforte der Rattenembryonen weist ebenso Mesenchym und angrenzendes Parenchym auf. Im Mesenchym liegt die D. choledochus- Anlage, deren Äste im Verlauf der Entwicklung ins Leberparenchym einsprossen, und die Pfortader.

Bei Rattenembryonen kann man an d15-17 den D. choledochus im Mesenchym mit weitem Lumen erkennen (Abb.23).

Die Primären Gallengänge liegen in der Leberpforte bei EHGA in den beiden lateralen und im medialen Bereich. Bei einigen Patienten treten sie in den lateralen Bereichen nicht auf. In unmittelbarer Nähe Primärer Gallengänge liegt immer eine Vene oder Arterie. Diese Trias ist von Bindegewebe umgeben. Die Gallengänge weisen ein kubisches Epithel auf (Abb.8 und 30).

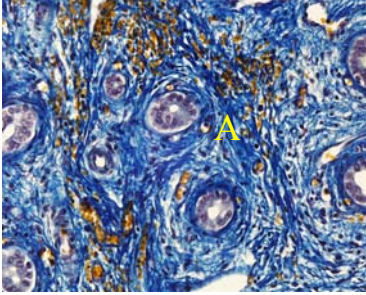


Abb.30
Primäre Gallengänge (A) in Region II, umgeben von dichtem Bindegewebe mit Lage in unmittelbarer Nähe zu einem Gefäß; HOPA 12,5x

An den Entwicklungstagen 15- 17 der Rattenembryonen zeigt sich der D. choledochus im Mesenchym der Leberpforte. Meist ist nur ein Gallengang erkennbar, der wie bei EHGA ein kubisches Epithel zeigt und eine Verbindung zum Darm erkennen lässt. Dieser Primäre Gallengang liegt wie bei EHGA in unmittelbarer Nähe eines großen Gefäßes, nämlich der Pfortader (Abb.25,26,27 und 28).

Die Gallengangsproliferate liegen bei EHGA dicht entlang der Parenchym- Fibrosegrenze (Abb.14). Umgeben sind sie von lockerem Bindegewebe.

Sie zeigen kubisches Epithel. In einigen Fällen ist eine Verbindung der Proliferate mit dem Parenchym erkennbar.

Bei den Rattenembryonen sind an den Entwicklungstagen 15-17 an der Kontaktzone von Mesenchym und Parenchym ebenfalls Proliferate erkennbar (Abb.27 und 29). Von d15 nach d17 nimmt ihre Anzahl zu. An d15 sind sie im Bereich der Leberpforte erkennbar entlang der Mesenchym- Parenchymgrenze. An d17 zieht das Mesenchym weiter ins Parenchym ein (Abb.29). An diesen Kontaktstellen von Bindegewebe und Parenchym sind nun ebenfalls Gallengänge erkennbar. Sie weisen ein schmales Epithel mit kleinem Lumen auf. Ihre Struktur ist der Struktur der Proliferate bei EHGA ähnlich.

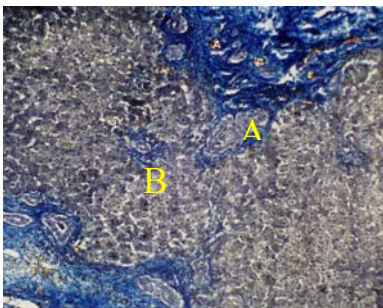


Abb. 31 Region II/III: Duktuläre Proliferate (A) entlang der Parenchym- Fibrosegrenze links unten; Vorstufen der Gallengänge (B) im Fibroseseptum in Region III; HOPA 12,5x

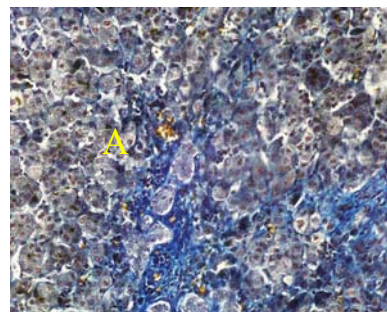


Abb.32 Region III, Vorstufen der Gallengänge (A), die sich vom Parenchym abschnüren, tubulusförmige Struktur ohne Lumen; HOPA 12,5x

Bei EHGA liegen schmale und breite Fibrosesepten vor (Abb.12,13,15 und 18). Einige haben Anschluß zu Glisson'schen Triaden. In diesen lassen sich entlang der Parenchym- Fibrosegrenze zahlreiche Proliferate und Vorstufen der Gallengänge erkennen. In breiten Septen und dichtem Bindegewebe liegen mehr Proliferate vor als in schmalen, sie liegen im Randbereich der Fibrose (Abb.12,13,14,19 und 21). Die Entwicklung von Proliferaten entlang der Kontaktstelle von Bindegewebe und Parenchym kann man bei Rattenembryonen auch an den Entwicklungstagen 15-17 erkennen (Abb.23,24,25 und 28). An diesen Tagen sprosst Bindegewebe immer weiter ins Parenchym ein und es lassen sich am Bindegewebe entlang immer tiefer im Parenchym Gallengangsstrukturen erkennen.

Die Vorstufen sind bei EHGA tubulusförmige oder clusterartige Strukturen, die sich vom Parenchym abschnüren, im Bindegewebe der Fibrosesepten liegen und kein Lumen aufweisen (Abb.21,22 und 32). Zum Teil kann man Vorstufen im fibrosenahen Parenchym erkennen, wenn schmales Bindegewebe in dieses einsprosst (Abb.31 und 32).

Bei Rattenembryonen lassen sich ebenfalls an den Randbereichen der Leberpforte clusterartige Strukturen an der Kontaktstelle von Mesenchym und Parenchym erkennen. Solche Strukturen liegen auch im mesenchymnahen Parenchym (Abb.24,25,27,28 und 29).

Gallekanaliculi liegen bei EHGA im Parenchym. In der Nähe der hilären Fibroseplatte sind sie von schmalem Bindegewebe umgeben. Sie sind auch in der Nähe der Periportalfelder zu finden, wenn Bindegewebe vom Periportalfeld ins Parenchym einsprosst (Abb.17). Eine Verbindung der Gallekanalikuli zu Proliferaten der Fibroseplatte oder den Gangstrukturen der Glisson'schen Trias konnte nicht beobachtet werden. Bei Rattenembryonen waren solche Strukturen nicht zu finden.

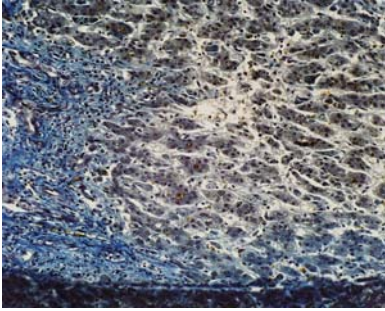


Abb.33 Region II/III, vereinzelte Proliferate entlang des Parenchym-Fibroseübergangs, kanalikuläre Cholestase im fibrosenahen Parenchym. HOPA 8x

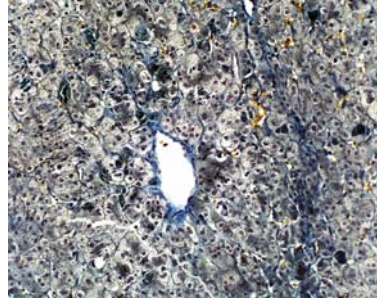


Abb.34 Region IV; kanalikuläre Cholestase in der Nähe einer Zentralvene; HOPA 12,5x

Im Bereich der Leberpforte lassen sich bei EHGA bei einigen Patienten Zeichen einer chronischen, z.T. granulierenden und fibrosierenden Entzündung erkennen (Abb.9). Solche Infiltrate sind bei den Rattenembryonen nicht erkennbar.

Im Parenchym zeigt sich bei EHGA eine unterschiedlich stark ausgeprägte Fibrose. In einigen Fällen ist eine septale Fibrosierung erkennbar, eine bindegewebige Verbreiterung der Glisson'schen Trias, bis zur Ausbildung von Pseudolobuli als Zeichen einer Zirrhose. In diesen Bereichen lassen sich an der Kontaktzone von Bindegewebe und Parenchym zahlreiche Proliferate und Vorstufen erkennen (Abb.6,11,21 und 22). Entlang der Kontaktstellen von Parenchym und Fibrose lassen sich Gallengangstrukturen erkennen, die eine ähnliche Struktur aufweisen wie sie bei Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 15-17 beobachtet werden können. Diese Gänge zeigen eine clusterartige oder tubulusförmige Struktur und weisen in einigen Fällen eine Verbindung zum Parenchym auf. An Tag 15 sind diese Strukturen im Bereich der Leberpforte erkennbar, im weiteren Verlauf auch tiefer im Parenchym. Bei Patienten sind diese Strukturen in den Fibrosesepten und im Randbereich der Glisson'schen Trias zu erkennen. Es lässt sich kein bestimmter Entwicklungstag der Rattenembryonen zur Histologie der EHGA zuordnen, die Gangstrukturen lassen sich aber ebenfalls im Bereich von Parenchym und Bindegewebe erkennen.

4.11. Vergleich der Morphologie der EHGA mit der Primär- Biliären Zirrhose

Zusätzlich wurde die Morphologie der EHGA mit der Morphologie der

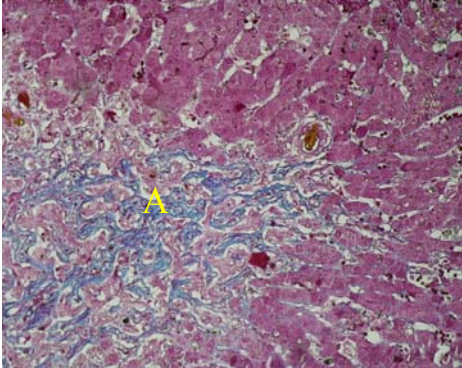


Abb.35
Primär- biliäre Zirrhose, Leberparenchym mit
Zeichen der duktulären Proliferation (A) in
Bereichen mit verstärkter Fibrosierung, kanalikuläre
Cholestase.
HE, 8x

Primär-biliären Zirrhose verglichen, einer ebenfalls mit biliärer Cholestase einhergehenden chronischen Lebererkrankung. Die Primär- Biliäre Zirrhose (PBC) ist eine chronische Lebererkrankung, die mit einer Destruktion der intrahepatischen Gallengänge einhergeht. Die Erkrankung manifestiert sich meist im 50.-60 Lebensjahr und führt zu einer biliären Leberzirrhose. Als Ursache wird eine Autoaggression angenommen. Die Histologie der Leber bei PBC (Abb.35) zeigt abhängig vom Stadium der Erkrankung eine duktuläre Proliferation im Periportalfeld. Im weiteren Verlauf verarmen die Periportalfelder an Gallengängen und der bindegewebige Umbau des Leberparenchyms schreitet fort, was dem alten Verschlußfeld bei EHGA ähnelt. Die Histologie der PBC ähnelt der Histologie der Leber bei EHGA. In den Fibrosesepten finden sich zahlreiche duktuläre Proliferate.

Teil 2

Korrelation der Histologie mit dem postoperativen Gallefluss

In diesem Untersuchungsschritt wird das Alter der Patienten, die Gesamtfläche und Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge mit dem Gallefluss in Verbindung gesetzt.

Die Gallengänge im Bereich der Resektionslinie der Leberpforte sind bei EHGA von entscheidender Bedeutung für den postoperativen Gallefluss und damit für die Prognose der Erkrankung. Deshalb wurde die distale Übergangszone (Region II), die die drainierende Fläche darstellt, besonders betrachtet.

In dieser Region wurden die Anzahl und Gesamtfläche der Gallengangsstrukturen bestimmt.

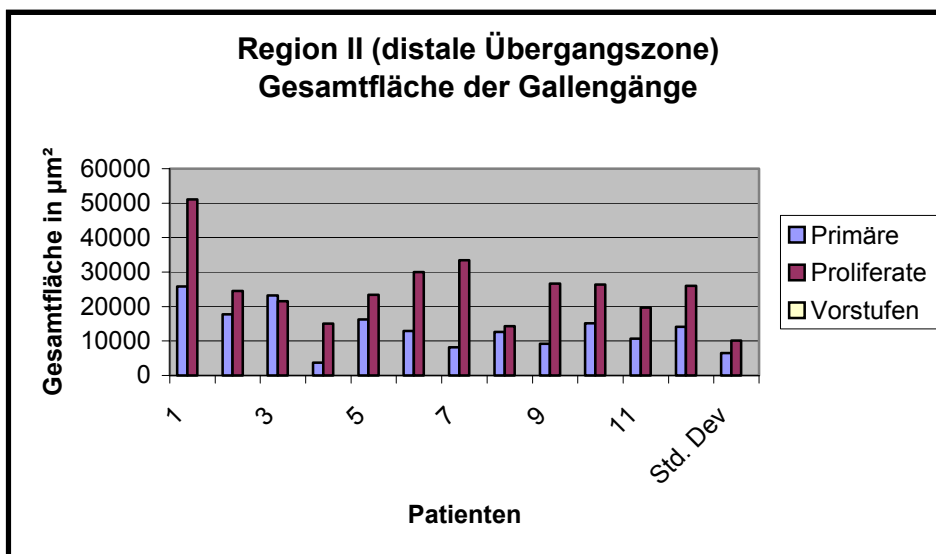
4.12. Vergleichende Betrachtung der Gesamtfläche (μm^2) der Gallengangsstrukturen (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II (Fibroseplatte) und Korrelation mit dem postoperativen Gallefluss

Da für den Erfolg einer Hepatoportoenterostomie das Areal der distalen Übergangszone, also ein Teil der Leberpforte aus Region II, entscheidend ist, wurden die Gesamtfläche und Anzahl der Gallengangsstrukturen in der distalen Übergangszone in Korrelation zum Gallefluss untersucht (Skizze 1).

In der Tabelle 11 sowie in der Graphik 5 wurden die Gesamtflächen der verschiedenen Gallengangsstrukturen (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge) der Region II der 11 Patienten in Beziehung gesetzt und zum postoperativen Gallefluss korreliert.

Patienten	Alter (Wochen)	Primäre Gallengänge (μm^2)	Proliferate (μm^2)	Vorstufen (μm^2)	Gallefluss
1	2 ½	25813,92	51066,08	0	Versiegt
2	3 ½	17765,60	24550,86	0	Gut
3	3 ½	23246,66	21546,02	0	Gut
4	4 ½	3747,54	15033,00	0	Versiegt
5	4 ½	16222,52	23392,51	0	Sehr gut
6	5 ½	12949,58	29997,82	0	Versiegt
7	5 ½	8172,99	33443,89	0	Spät versiegt
8	5 ½	12667,60	14319,29	0	Rasch versiegt
9	7	9198,39	26657,42	0	Gut
10	7	15114,57	26399,31	0	Gut
11	7 ½	10699,60	19733,61	0	Gut
Mean	-	14150,00	26010,00	0	
Std. Dev	-	6489,00	10120,00	0	

Tabelle 11
Gesamtfläche (μm^2) der Primäre Gallengänge, der Proliferate und der Vorstufen der Gallengänge in Region II unter Berücksichtigung des Galleflusses bei Patienten im Alter von 2½ - 7½ Wochen.



Graphik 5
Gesamtfläche (μm^2) der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II (distale Übergangszone) der Leberpforte bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von 2½ - 7½ Wochen waren, und Korrelation mit dem Gallefluss.

Schlussfolgerung:

1. Die Anzahl der Primären Gallengänge ist bei Patienten mit gutem und schlechtem Gallefluss ähnlich.
2. Der Gallefluss ist bei großer Gesamtfläche der Primären Gallengänge gut oder schlecht.

3. Bei sehr großer Gesamtfläche der Proliferate zeigte sich ein schlechter postoperativer Gallefluss. Die größte Gesamtfläche der Proliferate liegt bei den Patienten 6, 9 und 10 vor. Patient 1 hat die größte Gesamtfläche an Proliferaten und Vorstufen, sowie eine relativ große Gesamtfläche der Primären Gallengänge, weist allerdings einen schlechten postoperativen Gallefluss auf. Ein eindeutiger Zusammenhang von Gesamtfläche der Proliferate und dem postoperativen Gallefluss kann nicht festgestellt werden. Erkennbar ist aber, dass bei großer Gesamtfläche der Proliferate eher ein schlechter Gallefluss eintritt.
4. Auffällig ist der Zusammenhang von Gesamtfläche und Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten und dem Gallefluss. Liegt eine ähnlich große Fläche von Primären Gallengängen und Proliferaten in Region II vor, zeigt sich meist ein guter postoperativer Gallefluss. Ist die Gesamtfläche der Proliferate aber sehr viel größer als die der Primären Gallengänge, zeigt sich meist ein schlechter postoperativer Gallefluss. Aufgefallen ist bei den Patienten 1,2 und 10, dass bei einer geringen Anzahl Primärer Gallengänge in Region II sowie einer großen Zahl von Proliferaten ein schlechter Gallefluss verbunden war. Patienten mit gutem Gallefluss haben aber nur wenige Proliferate in Region II.
5. Fibrosegrad der Leberpforte, Anzahl und Gesamtfläche der Proliferate haben einen Einfluss auf den postoperativen Gallefluss. Die Gesamtfläche der Proliferate ist bei Patienten im Alter von 2½- 3½ Wochen am größten. Einen Unterschied zeigen diese Patienten bezüglich ihres postoperativen Galleflusses. Patient 1 hat einen schlechten Gallefluss und weist eine viel größere Gesamtfläche der Proliferate auf als Patient 2 und 3, die einen guten Gallefluss haben. Ebenfalls fällt die unterschiedliche Fläche der Primären Gallengänge auf. Diese ist bei Patient 2 und 3 deutlich niedriger als für die Proliferate. Somit bestätigt dies, dass ein schlechter Gallefluss bei großer Gesamtfläche und Anzahl der Proliferate vorliegt. Auffallend ist zusätzlich, dass Patient 2 und 3 einen niedrigeren Fibrosegrad der Leberpforte aufweisen (Tab.17) als Patient 1.
6. Hochgradige portale und septale Fibrosierung war sowohl mit einem guten als auch einem schlechten Gallefluss verknüpft (Patienten 1,2 und 10). Bei bindegewebiger Verbreiterung der Periportalfelder und in breiten Fibrosesepten zeigten sich zahlreiche Proliferate und Vorstufen im Randbereich zum Parenchym.

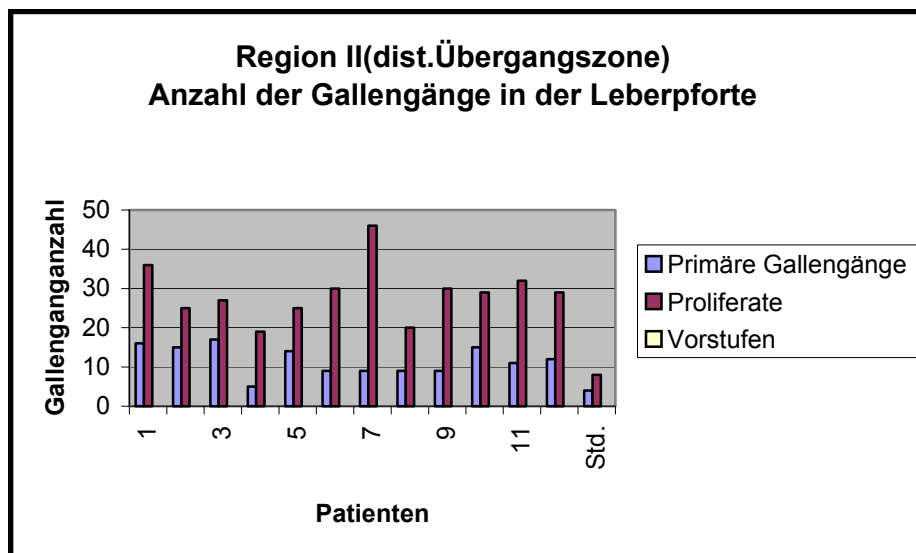
7. Erkennbar ist, dass im Hinblick auf Region II bei Patienten mit gutem Gallefluss das Verhältnis der Anzahl der Proliferate zu Primären Gallengängen 2,2x höher ist (1:2,2) als bei Patienten mit schlechtem Gallefluss (1:3,3), das bedeutet, dass eine geringe Anzahl von Proliferaten im Vergleich zu der Anzahl der Primären Gallengänge mit einem guten postoperativen Gallefluss verbunden war.
8. In einem Fall liegt die gleiche Anzahl von Primären Gallengänge und Proliferaten in Region II vor bei gutem und schlechtem Gallefluss (Patient 6 und 9). Sie unterscheiden sich in Region III. Die Anzahl der Gallengänge bei Patient 6 ist höher als bei Patient 9. Patient 6 zeigte eine hochgradige portale Fibrose und breite Fibrose-septen im Parenchym bei schlechtem Gallefluss. Patient 9 zeigte eine gering ausgeprägte septale Fibrose mit schmalen Septen. Dies zeigt einen Zusammenhang von Fibrose und postoperativem Gallefluss.
9. Gallekanaliculi können im fibrosenahen Parenchym bei Patienten mit gutem und schlechtem Gallefluss nachgewiesen werden.
10. 2 Patienten zeigten bei hochgradiger portaler und septaler Fibrosierung einen unterschiedlichen postoperativen Gallefluss (Patient 1 und 3). Beide Patienten zeigten im Parenchym zahlreiche Fibrosesepten und eine bindegewebige Verbreiterung der Portalfelder (z.T. Pseudolobulieausbildung). Der Patient mit gutem Gallefluss zeigte im gesamten Parenchym weniger Proliferate und Vorstufen als der andere Patient.

4.13. Vergleichende Betrachtung der Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II und Korrelation mit dem Gallefluss

Anschließend wurde die Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen der Gallengänge) in der Region II der Leberpforte bestimmt und mit dem Gallefluss korreliert. Dabei wurde die distale Übergangszone in Region II ausgewertet. Die Daten der Patienten wurden in Tabelle 12 und Graphik 6 eingetragen.

Patienten	Alter (Wochen)	Primäre Gallengänge	Proliferate	Vorstufen	Gallefluss
1	2 ½	16	36	0	Versiegt
2	3 ½	15	25	0	Gut
3	3 ½	17	27	0	Gut
4	4 ½	5	19	0	Versiegt
5	4 ½	14	25	0	Sehr gut
6	5 ½	9	30	0	Versiegt
7	5 ½	9	46	0	Spät versiegt
8	5 ½	9	20	0	Rasch versiegt
9	7	9	30	0	gut
10	7	15	29	0	Gut
11	7 ½	11	32	0	Gut
Mean		12	29	0	
Std. Dev.		4	8	0	

Tabelle 12
Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II (distale Übergangszone) bei Patienten im Alter von 2½ - 7½ Wochen waren. Zusätzlich Berücksichtigung des Galleflusses



Graphik 6
Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II der Leberpforte bei Patienten, die zum Zeitpunkt der Operation im Alter von 2½ - 7½ Wochen waren und Korrelation mit dem Gallefluss.

Schlussfolgerung zu 4.13:

Die Patienten mit gutem Gallefluss haben bis auf einen Patienten mehr als 10 Primäre Gallengänge in Region II (9-17). Patienten mit schlechtem Gallefluss haben 5-16 Primäre Gallengänge in Region II. Bei gutem Gallefluss liegt somit eine eher höhere Anzahl an Primären Gallengänge vor.

Eine Beurteilung der Funktion der Primären Gallengänge und Gallengangsproliferate führte zu folgendem Ergebnis:

Die Beurteilung der Funktion der Gallengangsproliferate zeigt, dass eine hohe Anzahl an Proliferaten meist einen schlechten postoperativen Gallefluss zur Folge hat. Bei der Untersuchung von Gesamtfläche und Anzahl der Primären Gallengänge im Vergleich zu

Proliferaten fällt auf, dass ein schlechter postoperativer Gallefluss vorliegt bei hoher Anzahl und Gesamtfläche der Proliferate. Dies liegt v.a. bei den jüngeren Patienten vor (Patient 1). Eine kleine Gesamtfläche der Primären Gallengänge und Proliferate zeigt einen guten oder schlechten Gallefluss, v.a. bei älteren Patienten. Wenn die Anzahl und Gesamtfläche der Proliferate ungefähr 2x so hoch ist, wie die der Primären Gallengänge ist bei den untersuchten Patienten ein guter Gallefluss nachgewiesen worden, sind die Anzahl und die Gesamtfläche aber größer, zeigt sich ein schlechter postoperativer Gallefluss.

Bei einer Betrachtung des durchschnittlichen Durchmessers der Primären Gallengänge bei Patienten mit schlechtem Gallefluss in Region II (0,389mm) fällt auf, dass dieser größer ist als der durchschnittliche Durchmesser der Primären Gallengänge in Region II bei Patienten mit gutem Gallefluss (0,356mm).

Die Beurteilung der Funktion der Proliferate zeigt, dass bei schlechtem postoperativem Gallefluss der Gangdurchmesser grösser ist als bei gutem postoperativem Gallefluss.

Der durchschnittliche Durchmesser der Proliferate bei Patienten mit schlechtem Gallefluss beträgt in Region II 0,296mm. Im Vergleich ist der durchschnittliche Durchmesser der Proliferate (0,272mm) bei Patienten mit gutem Gallefluss in Region II kleiner.

Zusammenfassung zu 4.12 und 4.13:

1. Ein guter Gallefluss liegt vor bei geringer Fibrose und wenigen Proliferaten in Region II.
2. Ein schlechter Gallefluss liegt vor bei starker Fibrose und zahlreichen Proliferaten in Region II.
3. Ein guter Gallefluss tritt auf bei gleichem Gangdurchmesser der Proliferate und geringer Fibrose.
4. Ein schlechter Gallefluss tritt dagegen auf bei gleichem Gangdurchmesser der Proliferate und starker Fibrose.

Fazit I:

- Guter Gallefluss liegt vor bei geringer Fibrose, wenigen Proliferaten und gleichem Gangdurchmesser der Proliferate.
- Schlechter Gallefluss liegt vor bei starker Fibrose, vielen Proliferaten und gleichem Gangdurchmesser der Proliferate.

Somit ist ein guter Gallefluss von der Fibrose abhängig und nicht von der Größe des Gallengangs.

Eine Teilnahme der Proliferate an der Galledrainage ist aus dieser Untersuchung nicht ableitbar. Auffällig ist aber, dass bei hochgradiger Fibrose und zahlreichen Gallengängen ein schlechter und bei hochgradiger Fibrose mit wenigen Proliferaten ein guter Gallefluss eintritt (Patient 1 und 3).

4.14. Einzelfalldarstellungen

Anschließend wurden zur genauen Bestimmung von Funktion der Primären Gallengänge und Proliferate, sowie deren Bedeutung für den Gallefluß weitere Untersuchungen durchgeführt.

Dazu wurden 2 Altersgruppen gebildet, um herauszufinden, ob es im früheren Lebensalter ein besserer Gallefluss vorliegt und zusätzlich, ob Anzahl und Gesamtfläche der Gallengangsstrukturen eine Altersabhängigkeit aufweisen.

Anschließend wird noch genauer untersucht, welchen Einfluß die Anzahl und Gesamtfläche von Primären Gallengängen und Proliferaten auf den Gallefluß haben. Damit soll beantwortet werden, welche Funktion die Primären Gallengänge und die Proliferate, sowie Vorstufen der Gallengänge haben.

Zusätzlich wurde noch ein 9½ Wochen alter Patient untersucht, der einen guten postoperativen Gallefluss aufwies.

4.15. Altersabhängiger Vergleich von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) in Region II bei Patienten im Alter von 2½- 4½ versus 5½- 7½ Wochen

Um zu untersuchen, welche Veränderung von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge in Abhängigkeit vom Alter im Beobachtungszeitraum von 8 Wochen vorliegt, wurden die Patienten in 2 Altersgruppen unterteilt. Gruppe 1 sind Patienten,

die im Alter von 2½- 4½ Wochen operiert wurden (Patienten 1-5); Gruppe 2 sind Patienten, die im Alter von 5½- 7½ Wochen operiert wurden (Patienten 6-11).

In den einzelnen Altersgruppen werden jeweils die Mittelwerte von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate und Vorstufen) in der dist. Übergangszone der Leberpforte in Region II berechnet. Anschließend werden die Werte der beiden Gruppen miteinander verglichen.

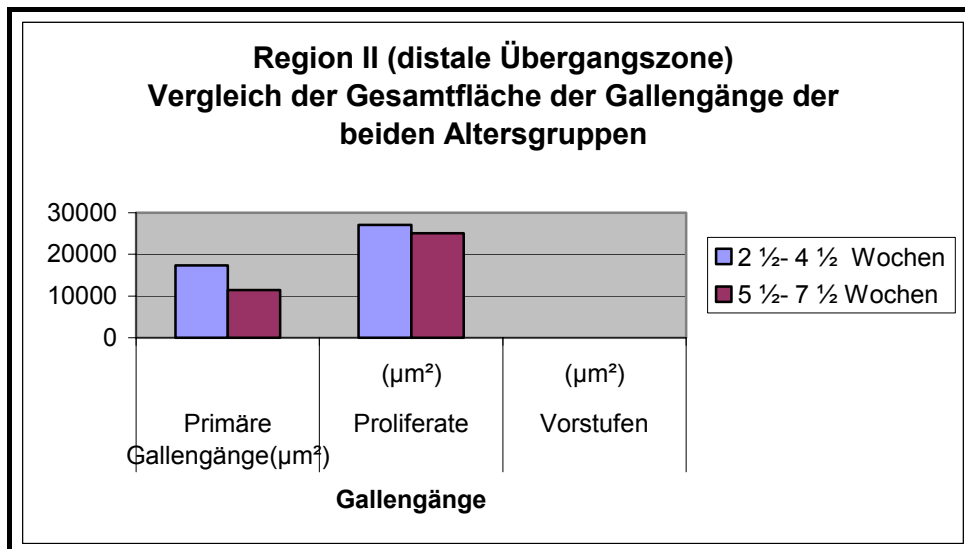
Region II (distale Übergangszone):

a) Vergleich der Gesamtfläche (µm²) der beiden Altersgruppen

In Tabelle 13 und Graphik 7 wurden die Daten der Patienten für die Mittelwerte der Gesamtfläche (µm²) der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate und Vorstufen) in Region II in 2 Altersgruppen von 2½- 4½ Wochen und 5½- 7½ Wochen eingetragen.

	Primäre Gallengänge(µm²)	Proliferate (µm²)	Vorstufen (µm²)
2 ½- 4 ½ Wochen	17359,25	27117,69	0
5 ½- 7 ½ Wochen	11467,12	25091,89	0

Tabelle 13
Vergleich der Mittelwerte der Gesamtfläche (µm²) der Gallengänge in Region II nach Unterteilung der Patienten in 2 Altersgruppen (2½- 4½ und 5½- 7½ Wochen).



Graphik 7
Vergleich der Mittelwerte der Gesamtfläche der Gallengänge der beiden Gruppen in Region II nach Unterteilung der Patienten in 2 Altersgruppen (2½-4½ Wochen und 5½-7½ Wochen).

Beim Vergleich der Gesamtfläche von Primären Gallengängen, Proliferaten und Vorstufen in Region II bei den Altersgruppen von 2½- 4½ und 5½- 7½ Wochen lassen sich folgende Ergebnisse erkennen.

Gruppe 1 hat eine größere Gesamtfläche der Primären Gallengänge und der Proliferate in Region II als Gruppe 2. Die Gesamtfläche der Proliferate ist in beiden Gruppen ähnlich groß (27117,69µm² und 25091,89µm²). In beiden Gruppen ist die Fläche der Proliferate größer als die der Primären Gallengänge. Es liegen in beiden Gruppen keine Vorstufen in Region II vor.

Zusammenfassung:

1. Die durchschnittliche Gesamtfläche der Primären Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Gallengänge ist in Region II in Gruppe 1 größer als in Gruppe 2.
2. In beiden Gruppen ist in Region II die Gesamtfläche der Primären Gallengänge und der Proliferate kleiner. In Region II ist die Gesamtfläche für Prim. Gallengänge in Gruppe 1 und 2 größer als 10000µm².
3. Patienten der Gruppe 2 haben in Region II für alle Gallengangstrukturen eine niedrigere Gesamtfläche als Patienten der Gruppe 1, so dass die jüngeren Patienten eine größere Gesamtfläche der Gallengangsstrukturen aufweisen.

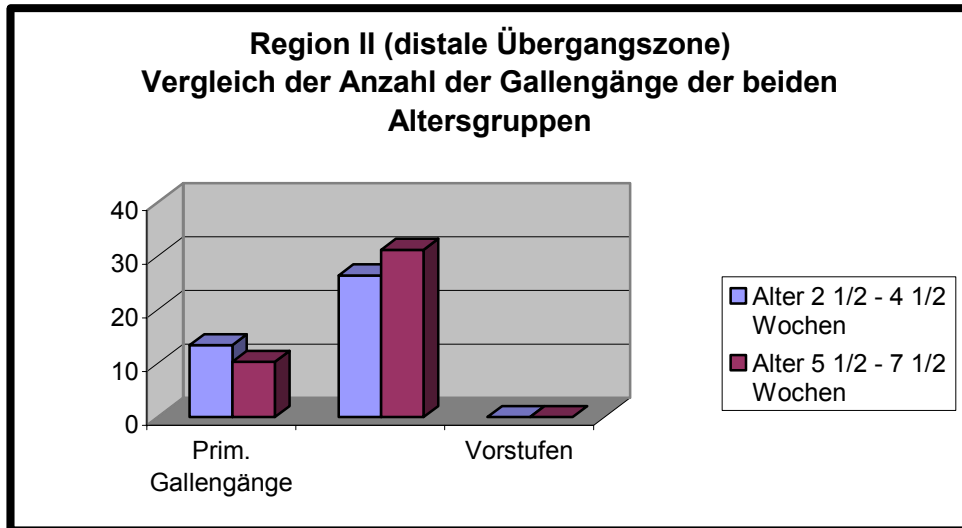
Region II (distale Übergangszone):

b) Vergleich der Anzahl der Gallengänge in den beiden Altersgruppen

In Tabelle 14 und Graphik 8 wurden die Daten der Patienten für die Mittelwerte der Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate und Vorstufen) in Region II in die beiden Altersgruppen (Gruppe 1: Patienten Nr.1-5; Gruppe 2: Patienten Nr.6-11) eingetragen.

	Primäre Gallengänge (µm²)	Proliferate (µm²)	Vorstufen (µm²)
Alter 2½ - 4½ Wochen	13,4	26,4	0
Alter 5½ - 7½	10,3	31,17	0

Tabelle 14
Vergleich der Mittelwerte der Anzahl der verschiedenen Gallengangstypen in Region II nach Unterteilung der Patienten in 2 Altersgruppen (2½- 4½ und 5½- 7½ Wochen).



Graphik 8
Vergleich der Mittelwerte der Anzahl der verschiedenen Gallengangstypen der beiden Gruppen in Region II in den beiden Altersgruppen (2½- 4½ Wochen und 5½- 7½ Wochen).

Beide Altersgruppen weisen mehr Proliferate als Primäre Gallengänge auf. In beiden Altersgruppen liegen in Region II jedoch keine Vorstufen vor. Altersgruppe 1 hat in Region II mehr Primäre Gallengänge und weniger Proliferate als Altersgruppe 2. In Altersgruppe 1 liegen 2x so viele Proliferate vor wie Prim. Gallengänge, bei Altersgruppe 2 sind es ca. 3x so viele Proliferate wie Prim. Gallengänge in Region II. Bezüglich der Gesamtfläche lässt sich dieses Verhalten nicht beobachten.

Zusammenfassung:

1. Altersgruppe 1 hat eine höhere Anzahl und größere Gesamtfläche der Primären Gallengänge in Region II als die Gruppe 2.
2. Die Proliferate haben in Region II in beiden Gruppen eine größere Anzahl und Gesamtfläche als die Primären Gallengänge.
3. In Region II sind keine Vorstufen nachweisbar.
4. In Region II haben die Primären Gallengänge und Proliferate in Altersgruppe 1 und 2 eine größere Anzahl und Gesamtfläche als in Region III.

4.16. Korrelation der Gesamtfläche und Anzahl aller Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate und Vorstufen der Proliferate) der Region II (distale Übergangszone) mit dem Gallefluss

Um zu beurteilen, ob der Gallefluss von der Zahl und Gesamtfläche der Primären Gallengänge versus Proliferate abhängt, wurde das Verhältnis der Anzahl und Gesamtfläche der Primären Gallengängen zu den Proliferaten bei Patienten mit gutem und schlechtem Gallefluss bestimmt. Die Primären Gallengänge wurden als Basis der Berechnungen verwendet und deshalb der Wert für Primäre Gallengänge für die Verhältnisberechnung immer =1 festgelegt. Zu diesem Wert wurde dann das Verhältnis der Gesamtfläche und Anzahl der Proliferate berechnet. D.h., um welchen Multiplikator die Fläche der Proliferate größer oder kleiner ist als die Fläche der Primären Gallengänge.

Zudem wurden die Patienten nach der Qualität des Galleflusses (guter/schlechter) in 2 Gruppen eingeteilt. Die Patienten 1,4,6,7 und 8 bildeten die Gruppe mit schlechtem Gallefluss. In die Gruppe der Patienten mit gutem Gallefluss gehören die Patienten 2,3,5,9,10,11 und 12).

Ziel war es, zu erkennen, welche Gesamtfläche und Anzahl der Primären Gallengänge einerseits und Proliferate andererseits vorliegen muss, um postoperativ eine gute Prognose erwarten zu können.

Ausgewertet wurde dafür die sog. distale Übergangszone in Region II, die die drainierende Fläche der Leberpforte darstellt und entscheidende Bedeutung für die Prognose hat (Skizze 1).

Zusätzlich wurde ein weiterer Patient berücksichtigt, der erst im Alter von 9½ Wochen operiert wurde, und einen guten postoperativen Gallefluss bekam (Patient 12). Dieser Patient konnte nicht in der Gesamtuntersuchung berücksichtigt werden, da das Studienprojekt nur Patienten berücksichtigen sollte, die innerhalb der ersten 8 Lebenswochen operiert wurden.

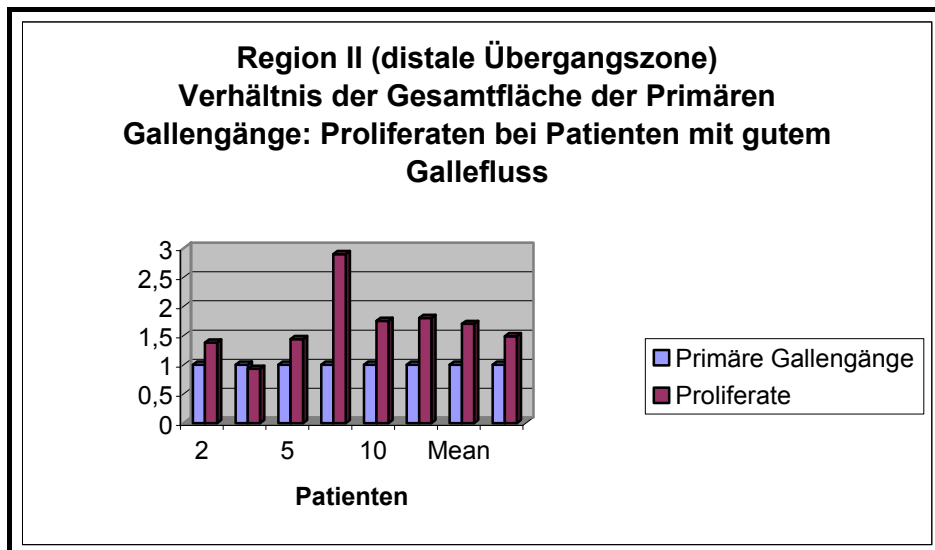
4.16.1a) Patienten mit gutem Gallefluss: Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II (distale Übergangszone)

In Tabelle 15 und Graphik 9 wird das Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu den Proliferaten bei Patienten mit gutem Gallefluss bestimmt.

Zusätzlich wurde ein weiterer Patient (Patient 12) untersucht, der im Alter von 9½ Wochen operiert wurde, und ebenso einen guten postoperativen Gallefluß zeigte.

Patienten	Primäre Gallengänge	Proliferate	Gallefluß
2	1	1,38	Gut
3	1	0,93	Gut
5	1	1,44	Sehr gut
9	1	2,9	Gut
10	1	1,75	Gut
11	1	1,8	Gut
Mean	1	1,7	
12	1	1,49	Gut

Tabelle 15
Bestimmung des Verhältnisses der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu den Proliferaten in Region II bei Patienten mit gutem Gallefluß



Graphik 9
Bestimmung des Zahlenverhältnisses der Gesamtfläche von Primären Gallengängen zu den Proliferaten bei Patienten mit gutem Gallefluß in Region II.

Die Gesamtfläche der Primären Gallengänge in Region II der Patienten mit gutem Gallefluß liegt zwischen 9198,39 und 23246,66µm², die der Proliferate zwischen 19733,61 und 26657µm². Bis auf einen Patienten (Nr. 3) ist die Gesamtfläche der Proliferate bei allen Patienten größer als die der Primären Gallengänge. Die Fläche der Proliferate bei Patienten mit gutem Gallefluß ist so groß wie die der Primären Gallengänge oder bis zu 3x größer. Bei 5 Patienten ist die Gesamtfläche der Proliferate im Durchschnitt 1,7x größer als die der Primären Gallengänge.

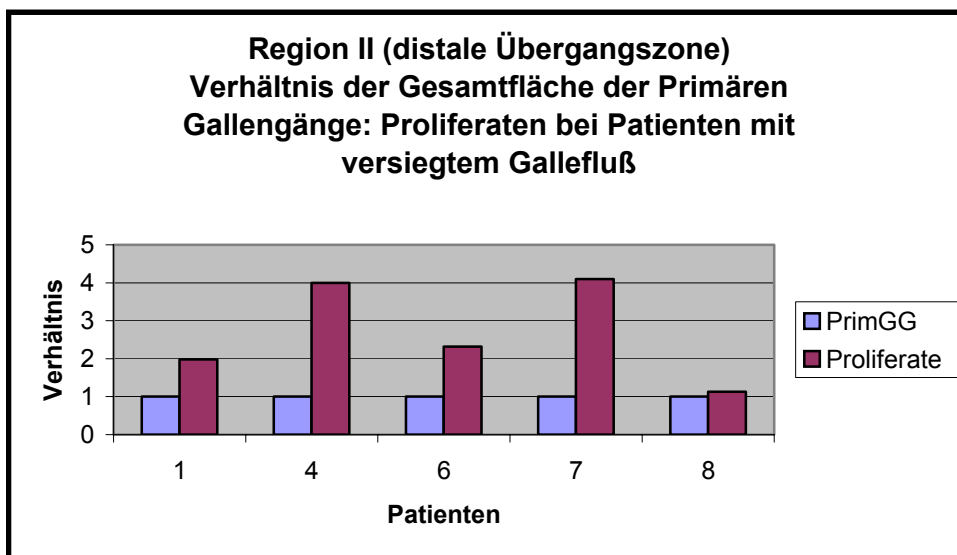
Bei Patient 12 ist die Gesamtfläche der Proliferate ungefähr 1,5x so groß wie die der Primären Gallengänge und liegt somit im gleichen Bereich wie die der anderen Patienten mit gutem Gallefluß (1:1,49) und weist ein ähnliches Verhältnis auf.

4.16.1. b) Patienten mit schlechtem/ versiegttem Gallefluss:**Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II (distale Übergangszone)**

In Tabelle 16 und Graphik 10 wird das Zahlenverhältnis der Gesamtfläche von Primären Gallengängen zu den Proliferaten bei Patienten mit schlechtem Gallefluss bestimmt.

Patienten	Primäre Gallengänge	Proliferate	Gallefluss
1	1	1,98	Versiegt
4	1	4,00	Versiegt
6	1	2,32	Versiegt
7	1	4,1	Spät Versiegt
8	1	1,13	Rasch Versiegt
Mean	1	2,7	

Tabelle 16
Bestimmung des Verhältnisses der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II bei Patienten mit schlechtem Gallefluss



Graphik 10
Bestimmung des Zahlenverhältnisses der Gesamtfläche von Primären Gallengängen zu den Proliferaten bei Patienten mit versiegttem/ schlechtem Gallefluss in Region II.

Die Gesamtfläche der Primären Gallengänge liegt bei dieser Gruppe zwischen 3747,54 und 25813,92 μm^2 , die der Proliferate zwischen 14319,29 und 51066,08 μm^2 . Die Gesamtfläche der Proliferate ist bis auf eine Ausnahme ungefähr 2,7x größer als die der Primären Gallengänge (1:1,98-1:4,1; Durchschnitt: 2,7). Eine Zunahme der Gesamtfläche der Proliferate im zeitlichen Verlauf läßt sich nicht erkennen.

Patienten (Nr.)	Alter (Wochen)	Fibrosegrad	Gallefluss
1	2 ½	III	Versiegt
2	3 ½	II	Gut
3	3 ½	II	Gut
4	4 ½	II	Versiegt
5	4 ½	II	Sehr gut
6	5 ½	III	Versiegt
7	5 ½	III	Spät versiegt
8	5 ½	III	Rasch versiegt
9	7	II	Gut
10	7	III	Gut
11	7 ½	III	Gut
12	9 ½	III	Gut

Tab. 17
Fibrosegrad der
Leberpforte bei EHGA
bei den Patienten 1-12,
eingeteilt nach
Schweizer/ Müller (54);
zusätzlich Korrelation mit
dem Gallefluss

Zusammenfassung aus 4.16.1a und b:

1. Bei Patienten mit gutem Gallefluss ist zu erkennen, dass die Gesamtfläche der Proliferate bis zu 1,7x größer ist als die Gesamtfläche der Primären Gallengänge.
2. Bei Patienten mit schlechtem Gallefluss zeigt sich, dass die Gesamtfläche der Proliferate bis zu 2,7x größer ist als die Gesamtfläche der Primären Gallengänge.
3. Bei Patienten mit schlechtem Gallefluss liegt somit eine größere Gesamtfläche der Proliferate im Verhältnis zur Fläche der Primären Gallengänge vor, als bei Patienten mit gutem Gallefluss.
4. Die Gesamtfläche der Primären Gallengänge in Region II liegt bei Patienten mit gutem und schlechtem Gallefluss in einem ähnlichen Bereich (9198,39-23246,66µm² und 3747,54- 25813,92µm²).
5. Die Patientengruppen unterscheiden sich nur im Hinblick auf die Gesamtfläche der Proliferate. Diese zeigt bei Patienten mit gutem Gallefluss Werte zwischen 19733,61- 26657,42µm². Bei Patienten mit schlechtem Gallefluss ist die Gesamtfläche der Proliferate sehr unterschiedlich mit einer Streuung zwischen 14319,29- 51066,08µm².

Eine Teilnahme der Proliferate an der Galledrainage ist aus dieser Untersuchung nicht abzuleiten, aber aus der Histologie. a)Es zeigen sich keine Verbindungen und b) kein

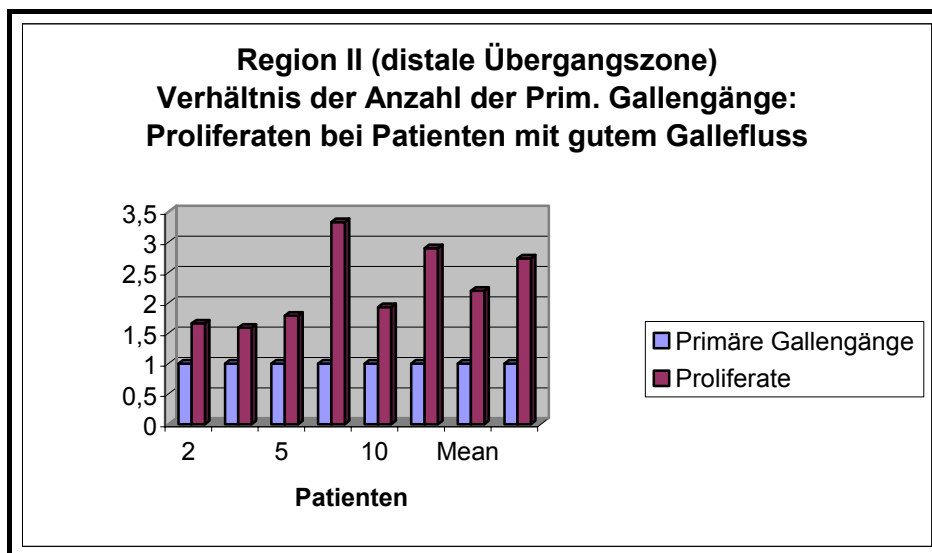
intraluminales Gallepigment im Vergleich zu den Gallekanalikuli und Primären Gallengängen, so dass eine Beteiligung der Proliferate an der Galledrainage nicht erkennbar ist. Bestätigt wird dies dadurch, dass Patienten mit einer großen Gesamtfläche und Anzahl an Proliferaten einen schlechten Gallefluss haben.

4.16.2a) Patienten mit gutem Gallefluss: Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II (distale Übergangszone)

In Tabelle 18 und 19 sowie Graphik 11 und 12 wird das Zahlenverhältnis der Anzahl von Primären Gallengängen zu den Proliferaten bei Patienten mit gutem Gallefluss bestimmt.

Patienten	Primäre Gallengänge	Proliferate	Gallefluss
2	1	1,66	Gut
3	1	1,59	Gut
5	1	1,79	Sehr gut
9	1	3,33	Gut
10	1	1,93	Gut
11	1	2,9	Gut
Mean	1	2,2	
12	1	2,73	Gut

Tabelle 18
Bestimmung des Zahlenverhältnisses der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II bei Patienten mit gutem Gallefluss



Graphik 11
Bestimmung des Zahlenverhältnisses der Anzahl der Primären Gallengänge zu den Proliferaten bei Patienten mit gutem Gallefluss in Region II.

Die Anzahl der Primären Gallengänge bei Patienten mit gutem Gallefluss liegt in Region II zwischen 9 und 17; die der Proliferate zwischen 25 und 32. Es liegen bei allen Patienten mehr Proliferate vor als Primäre Gallengänge, im Durchschnitt sind es 2,2x

mehr Proliferate (1:1,59-1:3,33). Bei 4 Patienten ist die Anzahl der Proliferate 1,5- 2x (1:1,59-1:2) größer als die der Primären Gallengänge.

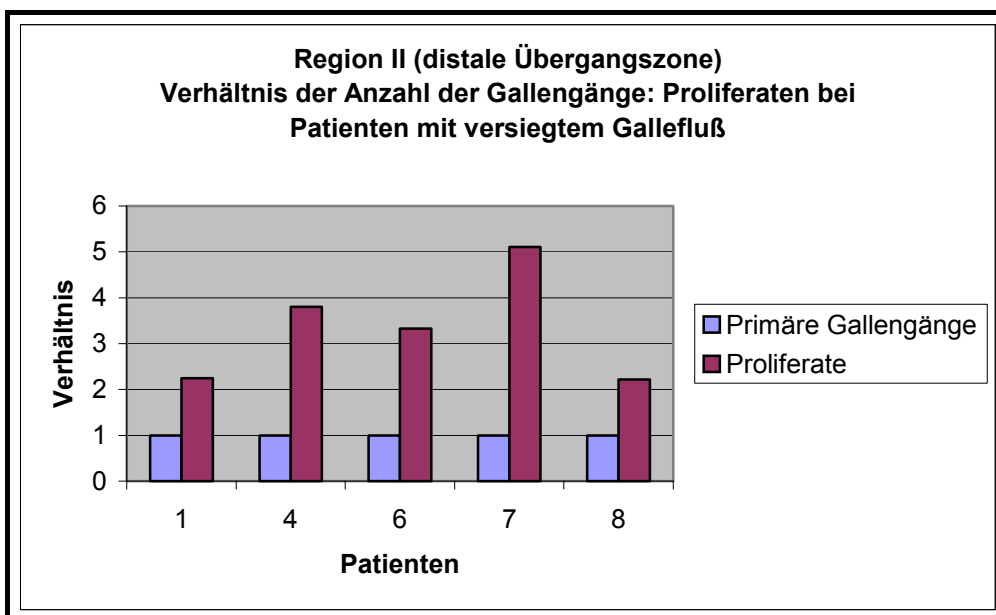
Erkennbar ist, dass im Hinblick auf Region II bei Patienten mit gutem Gallefluss das Verhältnis der Anzahl der Proliferate zu Primären Gallengängen 2,2x höher ist (1:2,2) als bei Patienten mit schlechtem Gallefluss (1:3,3), das bedeutet, dass eine geringe Anzahl von Proliferaten im Vergleich zu der Anzahl der Primären Gallengänge mit einem guten postoperativen Gallefluss verbunden war.

4.16.2b) Patienten mit schlechtem/ versiegttem Gallefluss, Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten in Region II (distale Übergangszone)

In Tabelle 19 und Graphik 12 sind die Daten der Patienten mit schlechtem Gallefluss aufgelistet.

Patienten	Primäre Gallengänge	Proliferate	Gallefluss
1	1	2,25	Versiegt
4	1	3,8	Versiegt
6	1	3,33	Versiegt
7	1	5,11	Spät Versiegt
8	1	2,22	Rasch Versiegt
Mean	1	3,3	

Tabelle 19
Bestimmung des Zahlenverhältnisses der Anzahl der Primären Gallengänge zu den Proliferaten in Region II bei Patienten mit schlechtem Gallefluss.



Graphik 12
Bestimmung des Zahlenverhältnisses der Anzahl von Primären Gallengängen zu den Proliferaten bei Patienten mit versiegttem Gallefluss in Region II.

Die Patienten mit gutem Gallefluss haben in Region III die gleiche Anzahl Primärer Gallengänge (0-2 Gallengänge) wie Patienten mit schlechtem Gallefluss und ähnliche Werte für Proliferate (7-26).

Bei den Patienten mit schlechtem Gallefluss ist die Anzahl der Proliferate im Durchschnitt 3,3x höher (1:2,22- 1:5,11) als die Anzahl der Primären Gallengänge. Die Anzahl Primärer Gallengänge beträgt 5- 16 bei diesen Patienten, 4 davon haben weniger als 10 Gallengänge. Die Anzahl der Proliferate liegt zwischen 19- 46.

Das Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge und Proliferaten in Region II ist bei Patienten mit schlechtem Gallefluss (1:2,2- 1:5,1) größer als bei Patienten mit gutem Gallefluss (1:1,59-1:3,3). Bei Patienten mit schlechtem Gallefluss liegt im Verhältnis zu den Primären Gallengängen eine größere Anzahl an Proliferaten vor als bei Patienten mit gutem Gallefluss.

Gesamtzusammenfassung aus 4.16:

1. Patienten mit gutem Gallefluss lassen sich über den gesamten Beobachtungszeitraum beobachten. Es gibt keine Häufung bei jüngeren oder älteren Patienten. In der Untersuchung zeigen aber eher jüngere Patienten einen schlechten Gallefluss. Auffällig war, dass Patienten mit hochgradiger portaler und septaler Fibrose (III°) einen guten oder auch schlechten (Patient 1 und 10) postoperativen Gallefluss hatten (Tab.17).
2. Die Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge zeigt, dass über den gesamten Zeitraum von 8 Wochen das Verhältnis von Anzahl und Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten bei gutem Gallefluss kleiner war als bei Patienten mit schlechtem Gallefluss. Es lagen im Vergleich mit der Anzahl und Fläche der Proliferate bei Patienten mit gutem Gallefluss weniger Primäre Gallengänge in Region II und III vor als bei Patienten mit schlechtem Gallefluss (Tab.15,16,18 und 19).
3. Es konnte ein Zusammenhang von Anzahl und Gesamtfläche der Primären Gallengänge und Proliferate und dem Gallefluss festgestellt werden. Bei Patienten mit hochgradiger portaler und septaler Fibrosierung (Tab.17) und wenigen Primären Gallengängen in Region II zeigt sich bei wenigen Proliferaten in Region II ein guter postoperativer Gallefluss (Patient 2,5,10 und 11). Liegen zahlreiche Proliferate in Region II vor, bei wenigen Primären Gallengängen in Region II, lag ein schlechter postoperativer Gallefluss vor (Patient 1,4 und 7).

4. Ein Patient, der im Alter von 9½ Wochen operiert wurde, wies einen guten postoperativen Gallefluss auf. Dieser Patient zeigt ein ähnliches Verhältnis von Anzahl und Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten wie Patienten mit gutem Gallefluss.

5. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge, sowie das Verhältnis der Gesamtfläche und der Anzahl der Primären Gallengänge zu den Proliferaten für den postoperativen Gallefluss von Bedeutung ist. Primäre Gallengänge haben eine große Bedeutung für den postoperativen Gallefluss. Liegen keine Primären Gallengänge in Region III vor und wenige Proliferate kommt es zu einem guten postoperativem Gallefluß. Liegen zahlreiche Proliferate in Region III vor, stellt sich ein schlechter postoperativer Gallefluss ein.

Fazit II:

Patienten mit schlechtem Gallefluss zeigen eine hohe Anzahl an Proliferaten und eine eher geringe Anzahl an Primären Gallengängen, so dass nach diesen Ergebnissen vor allem die Primären Gallengänge für den Gallefluss eine Rolle spielen.

4.17. Einzelfalldarstellung eines Patienten mit EHGA, der im Alter von 9½

Wochen operiert wurde.

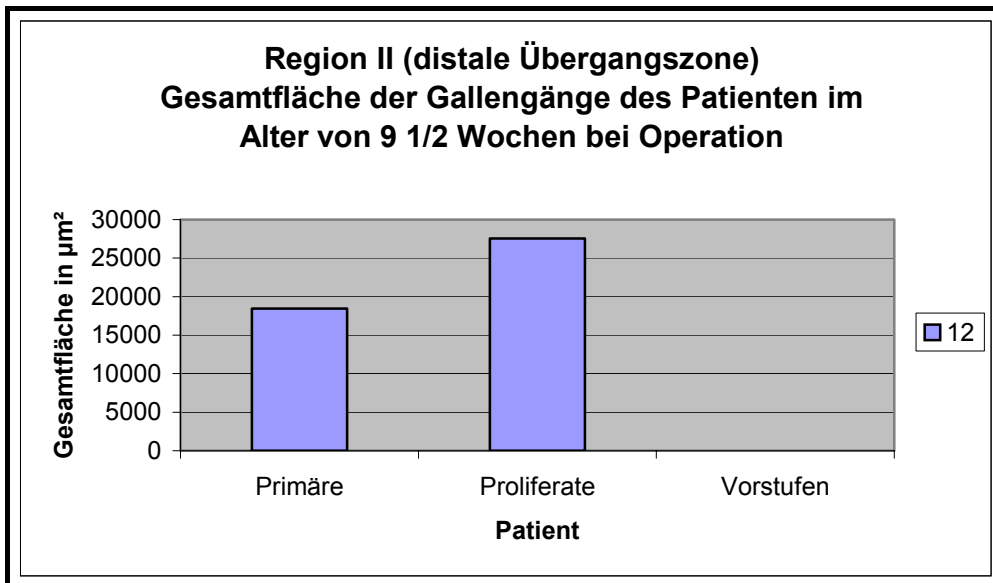
Dieser Patient mit EHGA wurde im Alter von 9½ Wochen operiert und zeigte postoperativ einen guten Gallefluss. Für die gesamte Untersuchung konnte der Patient nicht berücksichtigt werden, weil dafür Patienten ausgewählt wurden, die innerhalb der ersten 8 Lebenswochen operiert wurden. Bei diesem Patienten wurden ebenfalls die Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge in der proximalen und distalen Übergangszone der Regionen II und III der Leberpforte bestimmt und die Ergebnisse anschließend mit denen der anderen Patienten verglichen. Ziel war es, zu erkennen, welche Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge, Proliferate, Vorstufen) vorliegt, ob diese sich ebenso bei den jüngeren Patienten mit gutem Gallefluss zeigt, und welche Kombination von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge für einen guten Gallefluss nötig ist.

a) **Gesamtfläche (μm^2) der Gallengänge in Region II (distale Übergangszone)**

In Tabelle 20 und Graphik 13 sind die Daten des Patienten aufgelistet.

Patient	Primäre Gallengänge (μm^2)	\emptyset (μm)	Proliferate (μm^2)	\emptyset (μm)	Vorstufen (μm^2)
12	18463,9	391,82	27563,8	214,0	0

Tabelle 20 Gesamtfläche (μm^2) der Primären Gallengänge, Proliferate, Vorstufen in Region II eines 9½ Wochen alten Patienten.



Graphik 13 Gesamtfläche (μm^2) der Gallengänge in Region II bei einem Patienten, der im Alter von 9½ Wochen operiert wurde, und postoperativ einen guten Gallefluss zeigte.

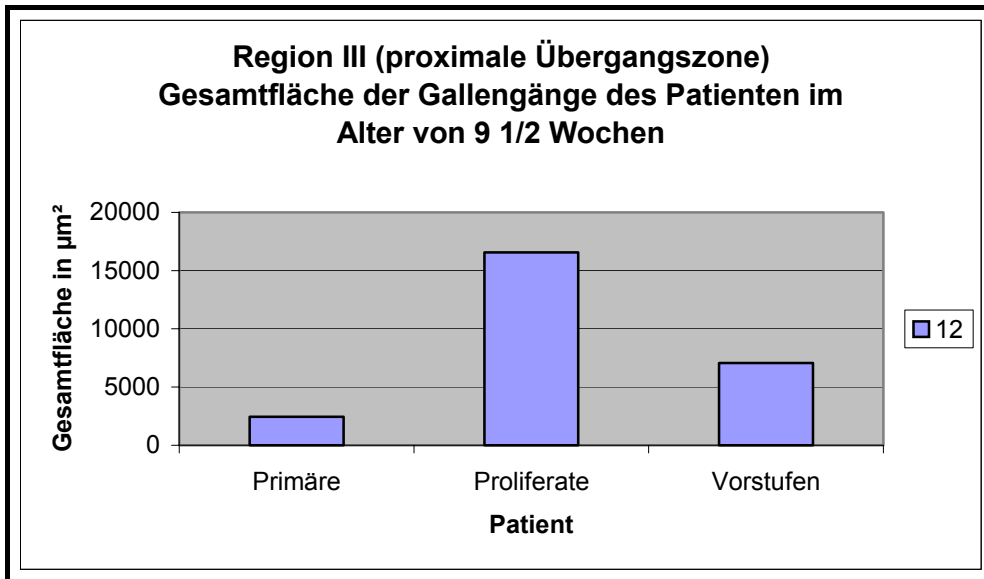
In Region II liegen bei dem 9½ Wochen alten Patienten keine Vorstufen vor. Die Fläche der Proliferate ist größer als die der Primären Gallengänge. Die Werte der Gesamtfläche in Region II lassen sich ähnlichen Werten von Patienten mit gutem Gallefluss (Kap.4.16) in der gleichen Kategorie zuordnen.

b) **Gesamtfläche der Gallengänge der in Region III (proximale Übergangszone)**

In Tabelle 21 und Graphik 14 sind die Daten des Patienten aufgelistet.

Patient	Primäre Gallengänge (μm^2)	\emptyset (μm)	Proliferate (μm^2)	\emptyset (μm)	Vorstufen (μm^2)
12	2454,53	390,65	16572,19	229,35	7072,62

Tabelle 21 Gesamtfläche (μm^2) der Primären Gallengänge, Proliferate, Vorstufen in Region III eines 9½ Wochen alten Patienten.



Graphik 14
Gesamtfläche (μm^2)
der Gallengänge in
Region III bei einem
Patienten, der im
Alter von $9\frac{1}{2}$
Wochen operiert
wurde, und
postoperativ einen
guten Gallefluss

Die Proliferate haben eine größere Gesamtfläche in Region III als Vorstufen und Primäre Gallengänge, diese Verteilung läßt sich auch bei Patienten aus dem Beobachtungszeitraum von 8 Wochen erkennen (Kap.4.16).

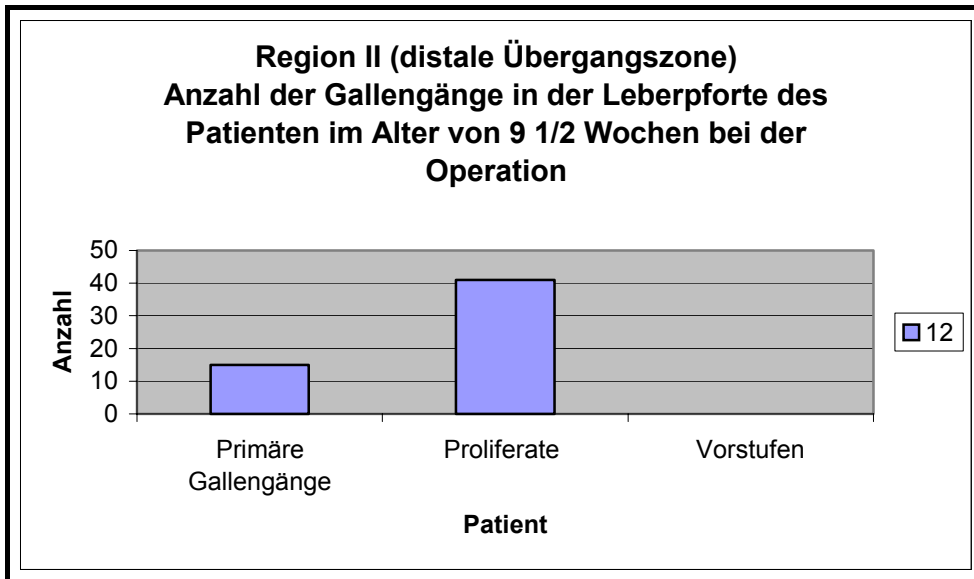
Bis auf die Gesamtfläche der Vorstufen in Region III lassen sich die Werte ähnlichen Werten der Patienten mit gutem Gallefluss zuordnen (Kap. 4.16).

c) **Anzahl der Gallengänge in Region II (distale Übergangszone)**

In Tabelle 22 und Graphik 15 sind die Daten des Patienten aufgelistet.

Patient	Primäre Gallengänge	Proliferate	Vorstufen
12	15	41	0

Tabelle 22
Anzahl der Primären
Gallengänge, Proliferate,
Vorstufen in Region II eines
 $9\frac{1}{2}$ Wochen alten Patienten.



Graphik 15
 Anzahl der Gallengänge in Region II bei einem Patienten, der im Alter von 9 1/2 Wochen operiert wurde, und postoperativ einen guten Gallefluss zeigte.

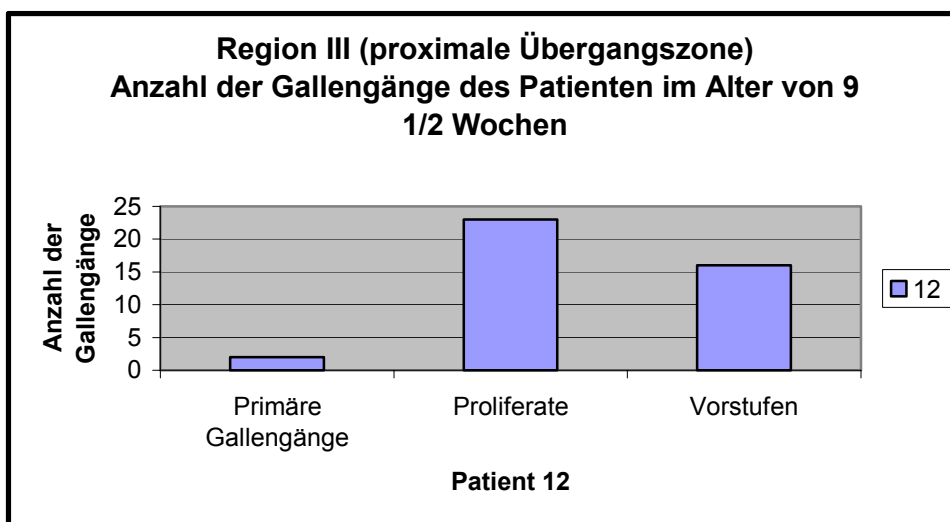
In Region II liegen keine Vorstufen bei diesem Patienten vor. Der Patient hat ca. 3x so viele Proliferate wie Primäre Gallengänge. Die Anzahl der Primären Gallengänge und Proliferate liegt im oberen Zahlenbereich, der bei den Patienten 1-11 festgestellt wurde (Kap.4.16).

d) Anzahl der Gallengänge in Region III (proximale Übergangszone)

In Tabelle 26 und Graphik 20 sind die Daten des Patienten aufgelistet.

Patient	Primäre Gallengänge	Proliferate	Vorstufen
12	2	23	16

Tabelle 23
 Anzahl der Primären Gallengänge, Proliferate, Vorstufen in Region III eines 9 1/2 Wochen alten Patienten.



Graphik 16
 Anzahl der Gallengänge in Region III bei einem Patienten, der im Alter von 9 1/2 Wochen operiert wurde, und postoperativ einen guten Gallefluss zeigte.

Dieser Patient hat 2 Primäre Gallengänge, sehr viele Proliferate und Vorstufen der Gallengänge in Region III.

Eine ähnliche Anzahl der Gallengänge (Primäre Gallengänge/ Proliferate/ Vorstufen) läßt sich in den entsprechenden Kategorien der Region III bei Patienten erkennen, bei denen sich auch ein guter postoperativer Gallefluss zeigte (Kap.4.16).

5. Diskussion

Teil 1: Vergleich der Histomorphologie der Leberpforte bei EHGA und Rattenembryonen

Formulierung der Aufgabenstellung

Da im Hinblick auf die Aufklärung der Pathogenese der EHGA bisher unterschiedliche Denkansätze verfolgt wurden, jedoch die bekannten Befunde keinen Denkansatz bestätigen können, soll in der vorliegenden Arbeit der morphogenetische Aspekt unter einem völlig neuen Denkansatz in den Vordergrund gerückt werden.

Als Ursachen der Extrahepatischen Gallengangsatresie werden in der laufenden Diskussion genetische, infektiöse, ischämische, toxische, immunologische und morphogenetische Einflüsse genannt (2,4,26,32,75).

Von den verschiedenen pathogenetischen Modellen kann die These von der Ischämie der Gallengänge (20,26,36,53,54) die realen Formen der Atresie mit einer totalen oder segmentären Obliteration lückenlos erklären. Daher kommt dieser These besondere Bedeutung zu. Die Ischämie kann embryonal als Folge ungenügender Entwicklung von Gefäßen bei defektem embryonalem, induzierendem und organisierendem Mesenchym oder perinatal als Folge von Gefäßverschlüssen oder generell schlechter Durchblutung entstehen (4,20,26, 47,53).

Die These einer viralen Infektion stützt sich experimentell auf ein nicht reales Infektionsmodell, das teilweise beweisende, teilweise nicht beweisende Ergebnisse brachte (4,5,26,28,32,72,75). Die These kann insbesondere nicht erklären, warum bei ein- und zweieiigen Zwillingen nicht beide, sondern immer nur ein Zwilling erkrankt (4,50).

In gleicher Weise macht die Zwillingsforschung auch eine genetische Ursache unwahrscheinlich, weil die Annahme einer genetischen Ursache die Erkrankung beider eineiiger Zwillinge erwarten lässt (4,45,50).

Zum morphogenetischen Aspekt liegen bisher keine ausreichenden Daten vor, deshalb soll er der besondere Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein.

Die Untersuchung ging von der Frage aus, ob die mesenchymalen Strukturen und Gallengangselemente, besonders in der Leberpforte und im Übergangsbereich von Leber-

portierte zu Leberparenchym, ähnliche Merkmale aufweisen wie die embryologischen Entwicklungsstufen der Gallengangsstrukturen und des Mesenchyms bei Rattenembryonen.

Wenn gezeigt werden könnte, dass die Gallengangsstrukturen bei EHGA embryonal gebliebene Formationen sind oder embryonale Strukturvorgänge bei biliärer Abflußstörung erneut aufgegriffen werden, wäre ein valider Hinweis auf eine morphogenetisch bedingte Fehlbildungsentwicklung der EHGA gegeben.

Untersucht und verglichen wurden daher die Leberpforten von Patienten mit EHGA im Alter von 2½- 7½ Wochen, sowie Rattenembryonen aus den Carnegie-Stadien 20-23, dem Entwicklungsstadium der Gallengänge.

Konzeption der Untersuchung

Zur Beantwortung der Frage wurden die Befunde aus Präparaten, die operativ von Kindern mit EHGA gewonnen wurden, mit den Präparaten besonderer Entwicklungsstadien von Rattenembryonen verglichen.

Aus der Literatur (4,15,36,54) ist bekannt, daß bei EHGA sowohl die Gallengangstrukturen als auch das Mesenchym verändert sind. Es ist zudem bekannt, daß bei EHGA Gallengangproliferate entstehen, die in bestimmten Formationen in der Leberpforte, an der Grenze der Leberpforte zum Leberparenchym, in Bindegewebssepten, die von der Leberpforte aus ins Parenchym einsprossen, und in den Periportalfeldern beobachtet werden (25,54). Diese Gallengangproliferate verändern sich im zeitlichen Verlauf der Erkrankung sowohl metrisch als auch morphologisch. Beispielsweise treten sie in beträchtlicher Zahl erst in der 4. Postnatalwoche (54) auf und treten auch in den von der Leberpforte aus ins Leberparenchym einwandernden Mesenchymstraßen, den sog. Bindegewebssepten, auf.

Deshalb stellt sich nun die Frage, ob sie bei EHGA schon primär vorhanden sind oder reaktiv als Folge des biliären Staus und der Mesenchymvermehrung neu entstehen (25,42). Im ersten Falle würde es sich um Gallengangstrukturen handeln, die sich im Laufe der Embryonalentwicklung nicht weiterentwickeln konnten; im zweiten Falle würde es sich um eine Neubildung von Gallengangstrukturen handeln, die entweder reaktiv als Folge des Gallestaus entstehen oder sich analog zur Embryonalentwicklung mesenchymal induziert entwickeln.

Die Störung der Embryonalentwicklung wird als Malformation der Gangplatte bezeichnet; es kommt zu einem Entwicklungsstopp der Gallengänge der Leberpforte mit dem Nachweis fetaler/ embryonaler Gangstrukturen (11,65,66,73). Zum Nachweis des embryonalen Charakters der Proliferate wurden Untersuchungen an Rattenembryonen durchgeführt. Diese zeigten, dass sich im Laufe der Gallengangsentwicklung Gallengänge entlang der Kontaktzone von Parenchym und Mesenchym entwickeln (18,42). Untersucht werden sollte nun, ob sich eine strukturelle Ähnlichkeit der Gallengänge in der Leberpforte bei EHGA und embryonalen Gallengängen der Rattenembryonen erkennen lässt. Zur Beantwortung dieser Fragen wurden in der vorliegenden Untersuchung Präparatfärbungen mit HOPA zur speziellen Darstellung des Bindegewebes durchgeführt.

Methodenkritik

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an Präparaten von 11 Patienten mit EHGA durchgeführt, weil nur von 11 Patienten komplette auswertbare Leberpfortenexcidate vorhanden waren. Die Leberpfortenexcidate wurden (soweit möglich) querschnitten und in 4 Regionen eingeteilt. Die Region I repräsentiert den Bindegewebsstrang, der den total oder segmental obliterierten, in manchen Präparaten auch gar nicht nachweisbaren Ductus choledochus enthält. Die Region II repräsentiert die pathologische bindegewebige Platte in der Leberpforte. Die Übergangszone zwischen der fibrösen Platte der Leberpforte und dem Leberparenchym wurde als Region III bezeichnet. Region IV entspricht dem Leberparenchym. In diesen 4 Regionen wurde das Ausmaß der Bindegewebsvermehrung mit den Fibrosegraden I-IV nach Schweizer und Müller (54), die Zahl und Größe der Primären Gallengänge, der Gallengangsproliferate und ihrer Vorstufen untersucht.

Die so gewonnenen Befunde wurden mit den histomorphologischen Befunden von Rattenembryonen in den Carnegiestadien 20-23 verglichen. Aus ethischen Gründen wurden keine menschlichen Embryonen untersucht. Da aber die Entwicklung der Gallenwege beim Menschen und der Ratte vergleichbare Merkmale aufweist (18), wurden Rattenembryonen zum Vergleich als ausreichend geeignet angesehen.

Sofern mit dem vorliegenden Material keine präzisen Querschnitte angefertigt werden konnten, mußten Schrägschnitte akzeptiert werden. Solche Schnitte erschwerten allerdings die Bestimmung der Gesamtfläche und der Anzahl der Primären Gallengänge, der Proliferate und der Vorstufen mit Hilfe des verwendeten Computerprogramms. Um aber auch bei diesen

Schrägschnitten zu Aussagen zu kommen, wurde folgende Voraussetzung definiert: In solchen Präparaten wurde jeweils der größte quere Durchmesser der einzelnen Gallengangsstrukturen aufgesucht und ausgemessen (Kap. 3.11.3). Bei Gallengangsstrukturen, die sehr nahe beisammen lagen, aber keine Verbindung zueinander zeigten, wurden benachbarte Präparatschnitte angefertigt und beurteilt, ob sich eine Verbindung erkennen läßt. Solche Gallengangstrukturen konnten sowohl einzelne Gallengänge sein oder auch wegen des geschlängelten Verlaufes mehrere aneinandergereihte Anschnitte eines Gallengangs darstellen. Zeigte sich in den parallelen Präparaten eine Verbindung, so wurde der Gallengangsabschnitt nur einmal ausgewertet und als einzelner Gallengang angesehen.

Lag jedoch in den benachbarten Präparaten keine Verbindung der Gangstrukturen vor, wurden beide Gallengangsabschnitte getrennt in die Auswertung einbezogen.

Vergleich der morphometrischen Befunde mit Literaturangaben

Normale Morphologie der Leberpforte

Im Hinblick auf die normale Anatomie der Leber und der Leberpforte entsprechen die erhobenen Befunde den Literaturangaben (51). Im normalen Leberparenchym sind die Leberläppchen als morphologische Baueinheit erkennbar. An den Eckpunkten der Leberläppchen liegen die periportal Felder, in denen die Glisson'sche Trias mit Ästen der Pfortader und der A. hepatica propria sowie den Gallengängen liegen (47,55). Die normale Leberpforte weist 3 Zonen auf. In der zentralen Zone liegen Gallengänge, die die Galleflüssigkeit aus dem Lobus caudatus, Lobus quadratus und dem Lebersegment I drainieren. In den lateralen Zonen liegen Gallengänge, die die Gallenflüssigkeit aus dem rechten und linken Leberlappen drainieren (51). Diese Einteilung in 3 Zonen lässt sich auch bei den portalen und arteriellen Gefäßen erkennen, die in unmittelbarer Nähe zu den Gallengängen liegen (51).

Histologie der Leberpforte bei EHGA

Die in den Präparaten von Kindern mit EHGA erhobenen Befunde können die Literaturangaben zu den Veränderungen der Leber und Leberpforte weitgehend bestätigen (2,4,16, 32,36, 38,45,54,60), aber auch noch ergänzen. Die Befunde und die Ergänzungen der Literaturangaben sollen hier nochmals zusammenfassend beschrieben und kritisch betrachtet werden.

Das operativ gewonnene Präparat der Leberpforte ließ sich analog zur Literatur (51) grundsätzlich in 4 Abschnitte einteilen:

Das mit starker Fibrose umgebene Gallengangsrudiment (Region I), die hiläre Fibroseplatte (Region II), die Übergangszone der fibrösen Platte zum Leberparenchym (Region III) und das mesenchymal veränderte Leberparenchym (Region IV). Im auffallend dichten strähnigen Bindegewebe des strangförmigen distalen Anteils (Region I) waren teilweise Gallengangsrudimente erkennbar (2,4,16,54), teilweise fehlten epitheliale Strukturen völlig oder waren nur clusterartig vorhanden. Das in manchen Präparaten noch nachweisbare Gallengangsrudiment entspricht dem total oder segmental obliterierten Ductus choledochus (16,55). Manche Präparate weisen noch epitheliale Cluster des obliterierten D. choledochus auf, in den meisten Präparaten fehlen die epithelialen Elemente jedoch ganz.

Die hiläre Fibroseplatte (Region II) wird ebenfalls von dichtem strähnigem oder verwirbeltem Bindegewebe gebildet, in dem sowohl Primäre Gallengangsstrukturen als auch Gallengangsproliferate einzeln, clusterartig in Ein- oder Mehrzahl vorliegen (4,29,37,39, 46,55). Zudem liegen in diesem Bindegewebe arterielle und venöse Gefäßknäuel (Äste der A.hepatica propria und der Pfortader) sowie clusterartig angeordnete nervale Strukturen (16,32,54). Vereinzelt konnten in der hilären Platte Gallengangsproliferate nachgewiesen werden, eine Häufung duktulärer Proliferate war im Bereich der Leberpforte entlang der Kontaktzone zum Parenchym (Region III) zu beobachten. Eine knotenförmige Anordnung der Proliferate mit konzentrisch geschichteten Fibroseringen im Bereich der hilären Platte (54) war nur selten nachweisbar. Die von Schweizer beschriebene regellose Verteilung der Proliferate innerhalb der diffusen Fibrose konnte bestätigt werden (54). Im Bereich der Leberpforte konnte eine geringe Distanz der Primären Gallengänge zu den portalen sowie arteriellen Gefäßen, besonders in den lateralen Zonen, festgestellt werden (55).

Die sehr unterschiedliche Größe der Proliferate konnte ebenfalls bestätigt werden (20). Das hervorstechende histologische Merkmal war die Vermehrung und Proliferation des Mesenchyms. Diese durchgehende Beobachtung weist darauf hin, dass ihm eine zentrale Rolle in der Entstehung der EHGA zukommen könnte.

Zellige Infiltrate in der Leberpforte bei EHGA

In dem dichten Bindegewebe der Leberpforte und im angrenzenden Leberparenchym konnten nur spärliche zellige Infiltrate nachgewiesen werden, in manchen Präparaten sind diese zellulären Infiltrate dichter (20,36,38,41, 54,60). Es handelt sich um Granulozyten, Plasmazellen und Lymphozytäre Zellen (22). Als Ursache der entzündlichen Infiltrate im Bereich der Leberpforte werden verschiedene Möglichkeiten diskutiert:

1. In einer Untersuchung von Park (38) und Tan (66) wurde extravasales Gallepigment, das nicht in das exokrine Gallengangssystem sezerniert wird, als Ursache für das entzündliche Infiltrat im Bereich der Leberpforte angenommen.
2. Die histologischen Veränderungen einer EHGA mit Nachweis entzündlicher neutrophiler und mononukleärer Zellinfiltrate (21,39) konnte bei Mäusen nach Infektion mit Rhesus-Rotavirus simuliert werden (39,41). Postuliert wird daher eine virale Ätiologie.
3. Der persistierende entzündliche Prozess in der Leberpforte ist die Folge der progressiven Destruktion der Gallengänge (15,51).
4. Tracy et al. (71) nehmen an, daß bei der EHGA primär eine entzündliche Schädigung der Gallengänge vorliegt. Das entzündliche Infiltrat stellt eine Reaktion auf die Schädigung des Lebergewebes durch die Cholestase dar. In den Regionen mit entzündlichen Zellen wurde eine gesteigerte Kollagensynthese nach Cytokinausschüttung festgestellt (71), was die Fibrosierung nach dem Entzündungsreiz erklären würde.

Eine schlüssige Erklärung für die Entstehung der entzündlichen Infiltrate gibt es bisher jedoch nicht (22), auch aus der vorliegenden Untersuchung kann keine Erklärung abgeleitet werden.

Bedeutung der Fibrosesepten

Von der hilären Platte sprossen altersabhängig breite Bindegewebsstraßen ins Leberparenchym ein, so daß es zum Bild der septalen Fibrose kommt. Außerdem sind die Periportalfelder durch bindegewebige Vermehrung verbreitert (51,52). Die Einsprossung des Mesenchyms der Periportalfelder beginnt am Ende der 4. Lebenswoche. Die Bindegewebssepten zerteilen das Leberläppchen schließlich zu nicht mehr erkennbaren Pseudolobuli. Im Mesenchym der Fibrosesepten und in den Randbereichen der Periportalfelder können in der 3./4. Woche zahlreiche Proliferate und Vorstufen von Gallengängen nachgewiesen werden (32,38,54). In den meisten Präparaten ist auch eine tubuläre Umformation von Hepatozyten zu erkennen, die auch McEvoy (32) beschrieb. Diese tubulären Strukturen haben häufig eine gut erkennbare direkte Verbindung zu den Gallengangsvorstufen und Gallengangsproliferaten.

Bisher gibt es jedoch keine Erklärung, warum sich Hepatozyten zu tubulären Strukturen formieren.

Veränderungen der Periportalfelder bei EHGA

Die Glisson'sche Trias in den Periportalfeldern ist bis in die 8. Woche hinein immer nachweisbar (Abb.5). Sie enthält eng zusammenliegend neben arteriellen und portalen Gefäßen auch Primäre Gallengänge. Bestätigt werden konnte, dass sowohl in der Glisson'schen Trias als auch marginal des Periportalfeldes eine ausgeprägte Lymphangiektasie besteht (54). Zudem waren immer wieder Gefäßknäuel und Cluster nervales Gewebes zu erkennen (54). Die nähere Betrachtung der Gallengangsepithelien ließ nur selten eine Vakuolisierung und Epitheldestruktion erkennen (32). Morse et al. (33) nehmen an, dass ein unbekannter Auslöser zur Schädigung des Gallengangsepithels in der Perinatalzeit führt und dann eine Obliteration der Gallengänge zur Folge hat.

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen die Vakuolisierung und Zerstörung des Epithels bei erhaltener Basalmembran sowohl an den Gallengangsepithelien der Primären Gallengänge als auch der Proliferate in der fibrösen Platte, im Leberparenchym und in den Periportalfeldern.

Wenn die histologischen Veränderungen bei EHGA im zeitlichen Verlauf der Erkrankung betrachtet werden, so ergab die vorliegende Arbeit, wahrscheinlich mangels eines größeren Patientenkollektivs, keine über die Literatur hinausreichenden neuen Aussagen. Die Untersuchung bestätigte aber, dass Proliferate in einer bemerkenswerten Zahl erst in der 3./4. Woche auftreten, bis in die 8. Woche nachweisbar sind und dann im Rahmen der Zirrhoseentwicklung wieder verschwinden. Nicht bestätigt wurde, dass die Gallengängchen der Periportalfelder in den ersten 6 Lebenswochen noch mit einem Lumen bis in die Leberpforte reichen (32,54). Später ist eine Lumenverbindung oft überhaupt nicht mehr nachweisbar.

Die Zahl der Cholestasefröpfe in den Gallekanalikuli und Gallengängen der Periportalfelder nimmt mit stärkerer Fibrosierung der hilären Platte und der Periportalfelder zu (32,38,60), ein Befund der auch für ein noch funktionierendes intrahepatisches Gangsystem bei einer Abflußstörung in der Ebene der hilären Platte spricht. In dieses Bild paßt auch die ausgeprägte hepatozelluläre, kanalikuläre und periportale Cholestase, die in der vorliegenden Arbeit bei dem 9½ Wochen alten Kind beobachtet wurde. Die intrahepatischen Gallengänge sind also

sehr lange noch bis zu einem Alter von ca. 10 Lebenswochen funktionsfähig und können Galleflüssigkeit bis zur Leberpforte drainieren.

Die Veränderungen des Mesenchyms im zeitlichen Verlauf der Erkrankung können mit den Fibrosegraden nach Schweizer und Müller (54) definiert werden. Vor allem die bekannte Korrelation der Proliferatentwicklung zum Beginn der mesenchymalen Reaktionen und die Progredienz des mesenchymalen Strukturumbaus der Leber konnte mit den Befunden der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Bei einer Fibrose II/III° entsteht ohne den Einfluss einer Cholangitis in 20% eine Zirrhose (31). Treten eine oder mehrere Cholangitiden bei Fibrose II/III° auf, entwickelt sich in 50% eine Zirrhose (31). Bei einer Fibrose IV° entwickelt sich dagegen unabhängig von Cholestaseschüben in 86% eine Zirrhose binnen 3 Jahren (31).

Im Vergleich zu den jüngeren Patienten war bei älteren Patienten eine höhergradige Fibrose nachweisbar. Eine Ausnahme bildete jedoch ein 2½ Wochen altes Kind, das schon eine hochgradige portale und septale Fibrose aufweist. Patienten mit hochgradiger portaler und septaler Fibrose weisen zahlreiche Proliferate und Vorstufen, besonders in den breiten, sekundär entstandenen Fibrosesepten, auf. Dieser Befund deutet auf einen mesenchymalen Induktionsreiz zur Ausbildung von Gallengängen hin. Untersuchungen an Rattenembryonen, durchgeführt von unserer Arbeitsgruppe, können diesen Zusammenhang stützen (42). Andere Autoren (38) bestätigen den Zusammenhang von duktilären Proliferaten und Fibrosierung bei EHGA ebenfalls. Es wurde festgestellt, daß in Bezirken mit duktilärer Proliferation eine verstärkte Produktion extrazellulärer Matrix vorliegt (27) bzw. im Leberparenchym eine verstärkte Ablagerung von Kollagen Typ IV erkennbar ist (59). Als Ursache der aktiven Proliferation von Kollagenfasern, die in Bereichen mit duktilärer Proliferation nachgewiesen wurde, wird folgendes vermutet: Biliäres Material der intralobulären Gallengänge wird nicht in das extrahepatische Gangsystem sezerniert, sondern extravasal abgelagert. Diese Ablagerungen sollen zu einer progressiven entzündlichen Fibrose der Leberpforte führen (36).

Aufgefallen ist in verschiedenen Untersuchungen, daß die hepatische Fibrosierung bei rein intrahepatisch bedingter Cholestase, wie bei der IHGA (intrahepatische Gallengangsatriesie), weniger ausgeprägt und rasant verläuft als bei EHGA, und dass die Aktivität des Kollagens mit der Progredienz der Fibrose ansteigt (58).

Landing (29) widerspricht jedoch der Annahme, daß die Fibrose für die Proliferation der Gallengänge verantwortlich ist. Der Grund für diesen Widerspruch ist, daß die Fibrose im

Verlauf der Erkrankung progredient zunimmt, die Zahl der Gallengangspoliferate im späteren Stadium jedoch abnimmt. Deshalb, so argumentiert Landing, könne die Bindegewebsvermehrung nicht die Gangproliferation induzieren.

Das Gallengangsrudiment und die hiläre Platte

Die Bindegewebsstränge distal der hilären Fibroseplatte, also in der Region des Gallengangrudiments, sind rein fibrös oder enthalten innerhalb der Fibrose ein Konvolut von kleinen Gefäßen mit Kapillaren, Venen und arteriellen Formationen sowie nervalen Strukturen. Entzündliche Infiltrate fehlen in diesem Abschnitt. Damit können die Befunde anderer Autoren (16,54) bestätigt werden.

Die Betrachtung des Gallengangrudiments unter morphogenetischen Gesichtspunkten ergibt eine partielle kubische Epithelialisierung, zum Teil mit degenerativen Veränderungen und Vakuolen des Epithels (54). Manche Präparate älterer Patienten enthalten auch riesenzellhaltiges Granulationsgewebe im atretischen Strang (16). Die epithelialen Strukturen der Gallengangrudimente gehören aber nicht zu einem durchgängigen lumenhaltigen Gang, sondern sind nur clusterweise vorhanden. Damit bestätigen die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Befunde auch die Angaben anderer Autoren (16,47,54).

Die für die hiläre Platte erhobenen histologischen Befunde entsprechen durchweg den von anderen Autoren beschriebenen Befunden (16,47,51,52,54).

Über die bisher vorliegenden Ergebnisse hinaus wurde in der vorliegenden Arbeit aber noch die Anzahl und die Größe sowie Morphologie der in der hilären Platte der Leberpforte liegenden Gallengangstrukturen beschrieben. Zudem wurde darauf hingewiesen, daß auch in der hilären Platte Gallengangspoliferate auftreten, deren Epithel dem der in der Periportalfeldern liegenden und in den Bindegewebssepten des Leberläppchens auftretenden Gallengangsabschnitte entspricht (20,54). Auch ihr Durchmesser war ähnlich (Abb.3,8, 11 und 12).

Ein weiterer Befund betrifft den Übergangsbereich der hilären Platte zum Parenchym. Auch in der Zone des fibrosenahen Parenchyms präsentieren sich Gallekanalikuli und Gallengangspoliferate, die von schmalem, aus der hilären Fibroseplatte einsprossendem Bindegewebe umgeben sind. Teilweise sind die Gallekanalikuli mit Gallepigment gefüllt (38,54,60). Eine Verbindung der Gallekanalikuli zu den Poliferaten im Bereich der Übergangszone zwischen hilärer Platte und Leberparenchym, die sich in diesem Bereich vom Parenchym abschnüren, war nicht eindeutig erkennbar. Die Poliferate waren auch durchweg gallefrei.

Auffallend ist also immer wieder die Beziehung zwischen den Gallekanalikuli und Gallengangsproliferaten zum Mesenchym der Periportalfelder, zu den septalen Fibrosestraßen im Leberläppchen und der Übergangszone zwischen fibröser Platte und Leberparenchym.

Dieser Befund soll unter morphogenetischen Aspekten besonders betont werden, zumal die einschlägige Literatur (4,38,54,60) nicht dezidiert auf die Beziehung des Mesenchyms zu den Gallengangsstrukturen hinweist.

Park (38) vermutet als Ursache der EHGA einen ätiologisch nicht gefassten pathologischen Prozess im Gallenwegssystem, wobei sich in licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen eine hepatozelluläre Cholestase, ein Verlust der Mikrovilli an den Gallekanalikuli, degenerierte Gallengangszellen mit Gallepigment und eine periduktale entzündliche Fibrose nachweisen lassen. Eine hepatozelluläre Cholestase wurde auch im Parenchym, das in die Leberpforte hineinreicht, beobachtet. Möglicherweise haben noch nicht ausdifferenzierte Gallekanalikuli gering oder nicht ausgebildete Mikrovilli, so dass eine Vorform der endgültigen Struktur vorliegt. In morphogenetischer Hinsicht könnte dies einer gehemmten Weiterentwicklung entsprechen und die These von der morphogenetischen Entstehung einer EHGA stützen.

Die Histologie der Leber bei EHGA unter morphogenetischen Gesichtspunkten

Wenn die beschriebene Leberhistologie bei EHGA unter morphogenetischen Gesichtspunkten auf der Grundlage der Definition der verschiedenen Verschlussfelder betrachtet wird (54), dann können die von Schweizer und Müller (54) sowie Ho et al. (20) beschriebenen histologischen Befunde mit der vorliegenden Untersuchung weitgehend bestätigt werden.

Für das akute Verschlussfeld sind marginal akzentuierte duktuläre Proliferate und marginal z.T. lymphogranulozytäre Infiltrate des Portalfeldes pathognomonisch. Dieser Befund konnte auch in den vorliegenden Untersuchungen bestätigt werden.

Das chronische Verschlussfeld zeigt folgende Merkmale: eine progrediente, portale und periportale Fibrose, die Intensivierung der duktulären Proliferate, ein Abschmelzen von periportalen Leberzellbalken unter Einbeziehung in die Fibrose, keine ausschließliche marginale Lagerung der Ductuli. Die Primären Gallengänge sind im Periportalfeld in die konzentrische Fibrose eingebettet (Abb.5.) und liegen in der Glisson'schen Trias. Ihre Gallengangsepithelien sind nicht destruiert. Dieses chronische Verschlussfeld konnte sowohl bei dem 2½ Wochen alten Patienten als auch bei älteren Patienten dieser Serie nachgewiesen werden.

Ebenso erkennbar war bei diesem eine hochgradige septale und periportale Fibrose, wobei lockeres Bindegewebe die Trennung der Proliferate vom Parenchym darstellt. Einige Proliferate und Vorstufen des Periportalfeldes wiesen eine Verbindung zu tubulären Hepatozytenformationen des Parenchyms auf, ohne daß ein lumenhaltiger Anschluß an die Gallenkanalikuli festzustellen war. Entlang der Parenchym- Fibrosegrenze der Leberpforte lagen zahlreiche teils clusterartig, teils einzeln angeordnete Proliferate mit einer Verbindung zu tubulär, clusterartig angeordneten Hepatozytenformationen und Leberzellbalken.

Das alte Verschluffeld wird durch folgende Merkmale gekennzeichnet: Zum deutlichen Rückgang der ohnehin spärlichen entzündlichzelligen Infiltrate kommen auf das Parenchym übergreifende Mesenchymstraßen hinzu, eine deutliche Abnahme der Duktulusproliferate entlang der Grenze zwischen Periportalfeld und Leberläppchen sowie eine auffallende Dilatation einiger Ductuli im Periportalfeld. Im Parenchym selbst war die Abnahme der Proliferate nicht derart deutlich wie marginal des Leberläppchens.

Obwohl die Definition der Verschluffelder aus formalen und deskriptiven Gründen nützlich ist und auch inhaltlich die Progredienz der Veränderungen beschreiben kann, können die Verschluffelder als Ergebnis der vorliegenden Arbeit weder Altersgruppen noch in einer Ausschließlichkeit einem einzigen Patienten zugeschrieben werden. Beispielsweise ließ der 2½ Wochen alte Patient sowohl Zeichen eines akuten als auch eines chronischen Verschluffeldes erkennen. Bei ihm war zusätzlich zu den Veränderungen des akuten Verschluffeldes im Parenchym schon eine hochgradige septale Fibrosierung mit bindegewebiger Verbindung mehrerer Portalfelder erkennbar. In den septalen Fibrosefeldern dieses Patienten befanden sich zahlreiche Proliferate. Im Vergleich dazu ließen die Präparate des 9½ Wochen alten Kindes sowohl Zeichen des akuten als auch des alten Verschluffeldes erkennen.

Auffallend und erwähnenswert ist, daß bei den alten Verschluffeldern dieses Präparates im Periportalfeld eine geringe Anzahl von Gallengangsproliferaten zu finden war, mit einem deutlichen Abstand der Proliferate zum Parenchym, bedingt durch dazwischen liegendes Bindegewebe. Die Fibrosesepten der Leberläppchen zeigten jedoch noch zahlreiche Proliferate.

Veränderungen an den Primären Gallengängen bei EHGA

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß in den Primären Gallengängen der hilären Platte Gallenpfröpfe nachzuweisen sind, ein Befund, der auf eine Kommunikation der Gallengangs-

strukturen in der Leberpforte mit den Gallengangsstrukturen des Leberparenchyms hinweist (Abb.6). Es konnte jedoch analog zu Schweizer (54) keine Verbindung zwischen den intrahepatischen Gallengängen und den prähepatischen Gallengangsproliferaten festgestellt werden.

Das Epithel der Primären Gallengänge im Bereich der hilären Platte wird in den lateralen Bereichen meist als kolumnar (16), im zentralen Bereich als kuboidal (51,55) beschrieben. Der Unterschied des Epithels der Primären Gallengänge zu den Proliferaten war in der vorliegenden Untersuchung nicht so auffällig wie die Literatur berichtet. Es lag in den lateralen und der zentralen Region vorwiegend ein kubisches Epithel vor.

Die Morphologie der Gallengangsproliferate

Zahlreiche Proliferate lassen sich entlang der Parenchym- Fibrosegrenze nachweisen. Zusätzlich konnten viele Gangproliferate in den Fibrosesepten und Periportalfeldern nachgewiesen werden. Bei einigen war eine Verbindung zum Parenchym, von dem sie sich abschnüren, erkennbar (16,43,54). Zusätzlich konnte eine Veränderung der Struktur von Hepatozyten in den aus der Fibroseplatte ins Parenchym einsprossenden Bindegewebssepten erkannt werden.

Grundsätzlich kann konform mit den schon beschriebenen Befunden in der Literatur (1,2,29,43,54) festgestellt werden, daß es im zeitlichen Verlauf der Erkrankung nach der 8. Lebenswoche sowohl in der Leberpforte als auch im Periportalfeld zu einer Abnahme der Gallengangsproliferate kommt. Zeitlich markiert die achte Lebenswoche eindeutig die Reduktion der Gallengangsproliferate in den Präparaten (54). In den ersten 8 Lebenswochen ist dagegen keine eindeutige Abnahme der Anzahl der Gallengangsproliferate erkennbar (1,2, 29,43). Wenn die Betrachtung der Gallengangsproliferate auf die Regionen II und III konzentriert wird, kann festgestellt werden, dass in Region II 24-53 Gangproliferate auftreten. Am höchsten war die Zahl bei den jüngsten Patienten; bei Patienten im Alter von 7- 7½ Wochen liegt eine Anzahl von ca. 40 Proliferaten vor. In Region III zeigte sich auch keine kontinuierliche Abnahme der Anzahl der Proliferate. Eine Ausnahme von der Regel ist der 9½ Wochen alte Patient. Seine Präparate zeigten eine hochgradige portale und septale Fibrose mit Anzeichen der Pseudolobulieausbildung und zahlreiche Proliferate in den Fibrosesepten. Im Bereich der Leberpforte lagen ebenfalls zahlreiche Proliferate vor, so dass hier trotz des Alters nicht von einer Abnahme der Proliferate gesprochen werden kann.

Die Leberpforten 2- 4 Wochen alter Patienten zeigen eine mäßige bis starke duktiläre Proliferation bei mäßiggradiger bis hochgradiger portaler Fibrose (Abb.12,13 und 14). Diese

Beobachtung entsprach anderen Untersuchungsergebnissen gleichaltriger Patienten, bei denen ein Fibrosegrad I-II mit zahlreichen Ductuli nachgewiesen wurde (60).

Es wird angenommen, daß duktiläre Proliferate aus der Metaplasie von periportalen Hepatozyten oder durch Proliferation von Präexistenten Gallengangepithelzellen oder Stammzellen entstehen (8).

Präexistente Gallengänge z.B. im Periportalfeld zeigten keine Verbindung zu duktilären Proliferaten. Diese Befunde sprechen im Hinblick auf die Entstehung der Proliferate eher für eine Metaplasie der periportalen Hepatozyten als für eine Proliferation der Präexistenten Gallengänge.

Der Ursprung der duktilären Proliferate ist bisher unbekannt. Angenommen wird eine Proliferation bestehender primärer Gallengänge, eine Metaplasie und Umformung der Hepatozyten oder eine Proliferation eines vermuteten Stammzellkompartiments (9). Eine spezielle Untersuchung (9) der Leberpforten von Kindern mit EHGA im Vergleich zum humanen Fetus mit einem monoklonalen Antikörper (OV-6) zur Markierung von Zellen der Gangplatte sowie der Gallengänge zeigte eine Anreicherung dieses Antikörpers an den Grenzen von Leberpforte und Gangplatte/ primitive Gangzellen in der fetalen Leber und bei EHGA, die sich im normalen Lebergewebe nicht zeigte. Dieser Befund deutet auf eine Entwicklungsstörung der Gangplatte bei EHGA hin.

Intralobulär liegende Gallengangsproliferate: In Regionen mit duktilären Proliferaten wurde eine aktive Proliferation von Kollagenfasern nachgewiesen (38). Vermutet wird, daß extravasales biliäres Material nicht in das Gallenwegssystem sezerniert wird, sondern ins Parenchym oder Interstitium und zu einer Fibrose führt (38).

Im frühen Stadium der EHGA ist die intrahepatische Cholestase in den Leberläppchen prominenter als in der Leberpforte, in späteren Stadien ist die Cholestase in der Leberpforte prominenter (38). Dieser Befund konnte bei den vorliegenden Untersuchungen über den Beobachtungszeitraum von 9½ Wochen nicht eindeutig beobachtet werden. Patienten mit 2½ und 9½ Wochen zeigten eine gleich starke kanalikuläre Cholestase.

Die in den Ergebnissen beschriebene Morphologie deutet darauf hin, daß sich Ductuli erst nach Einsprossung des Bindegewebes bilden, also mesenchymal beeinflusst sind.

Vorstufen der Gallengangsproliferate (Abb.21 und 22) ließen sich in Präparaten der Patienten mit EHGA in den Periportalfeldern und Fibrosesepten entlang der Kontaktstelle von Parenchym und Bindegewebe erkennen. Sie zeigen ein clusterartiges Aussehen und weisen in

den meisten Fällen eine Verbindung zum Parenchym, von dem sie sich abschnüren, auf. Ein Lumen ist jedoch nicht nachzuweisen. Zu Gallekanalikuli ist keine Verbindung erkennbar.

Bei starker Fibrosierung der Leberpforte und der Periportalfelder ließen sich zahlreiche Vorstufen im Mesenchym beobachten.

Diese Vorstufen haben eine phänotypische Ähnlichkeit mit den primären, normalen Gallengängen, die aus der Gangplatte hervorgehen und den duktilären Proliferaten, die bei bestimmten Lebererkrankungen auftreten (9). Diese Beobachtung wird auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt.

Gallekanalikuli, die im fibrosenahen Parenchym der hilären Platte und nahe der Fibrosesepten, sowie der Periportalfelder (7) liegen, weisen Cholestasefröpfe auf, und haben somit Anschluß an das intrahepatische Gangsystem (Abb.17 und 33). Eine Verbindung zu Gangproliferaten der Periportalfelder oder der hilären Platte war nicht erkennbar.

In fast allen Präparaten waren analog zur Literatur als Zeichen des behinderten Galleabflusses Gallefröpfe in den Gallekanalikuli und Primären Gallengangstrukturen der Periportalfelder nachweisbar (16,32,38,54), während im Gegensatz dazu die Lumina der Duktuli sowie die Vorstufen gallefrei waren.

Diese Gallekanalikuli waren von schmalen Bindegewebe umgeben und lagen bei Patienten mit gutem und schlechtem postoperativem Gallefluss vor.

Beziehung zwischen der Morphologie der Leberpforte bei EHGA und bei Rattenembryonen

Eine entscheidende Frage lautet, ob bei der EHGA embryonale Vorstufen der Gallengänge vorliegen. Zu dieser Frage soll im Folgenden Stellung genommen werden.

Die EHGA ist eine Erkrankung der von distal ins Leberparenchym einsprossenden Gallengänge (4). Die bisher vorliegenden Ergebnisse zur Ätiologie und Pathogenese der EHGA lassen verschiedene Mechanismen der perinatalen und postnatalen Schädigung der Gallengänge (2,50,54) bis hin zu einer Malformation der duktilen Platte durch Hemmung der fetalen Entwicklung vermuten (12,65,66). Bisher gibt es keinen Beweis dafür, daß die EHGA das Ergebnis einer Störung der morphogenetischen Rekanalisation des D. choledochus während der embryologischen Entwicklung, wie bei anderen Hohlorganstrukturen, beispielsweise des Ösophagus oder des Duodenums, ist (4,32).

Es gibt Hinweise, dass bei der EHGA eine gestörte embryologische Entwicklung vorliegt (4,11,73), die erst in der späten Fetalperiode stattfindet (15). Angenommen wird, daß durch

einen „Reifungsblock“ der Gallengänge während der Entwicklung oder durch eine Störung der Umformung der Gangplatte in der Entwicklungsphase eine EHGA entsteht (4,11,73). Es wird eine embryologische Entwicklungsstörung in der 11. Gestationswoche vermutet. In der 11.- 13. Gestationswoche läuft im Bereich der Leberpforte an der primären biliären Gangplatte ein spezifischer Prozess, das sog. **„Remodelling“**, ab (Abb.23).

„Remodelling“ beschreibt einen Entwicklungsabschnitt im Bereich der Gangplatte, wobei aus der Gangplatte durch Umformungsprozesse ein sich verzweigendes Netz an Gallengängen entsteht, das sich in Richtung Leberparenchym ausdehnt.

Angenommen wird, dass **Malformationen der Gangplatte** das Resultat einer intrauterinen Schädigung durch die Störung dieses Prozesses sind, die zum Stop der Entwicklung der Gallengänge führen. Histologisch erkennt man eine Persistenz und Vermehrung der tubulären Gallengangstrukturen (11,12,43,65,73).

Aufgrund dieser nicht widerspruchslösen Daten soll die Entwicklung des extrahepatischen Gallengangsystems nochmals betrachtet werden:

Das extrahepatische Gallengangsystem (Abb.23 und 24) entwickelt sich aus dem hepatischen Divertikel, während sich das intrahepatische Gallengangsystem in der Leber aus der Gangplatte entwickelt (4,74). Das intrahepatische Gallengangsystem ist zu Beginn eine primitive Gangplatte. In der 11. Gestationswoche beginnen an der Gangplatte strukturelle Veränderungen, die an der Leberpforte beginnen und bis ins Leberparenchym fortschreiten. Während dieses Umformungsprozesses (=Remodelling) ändert sich die Struktur der Gangplatte von einer flachen Gallengangepithelschicht, die die Pfortaderäste umgeben, in ein Netzwerk von sich verzweigenden tubulären Strukturen (43,67). Dieses Remodelling wird von mesenchymalen Reaktionen begleitet, so dass die Aussage erlaubt ist, dass das Mesenchym bei diesem Prozess eine wichtige Rolle spielt. Im Bereich der Leberpforte kommt es zur Ausbildung einer luminalen Kontinuität zwischen intra- und extrahepatischen Gallengängen (67) und damit zur Fusion der beiden Gangsysteme.

Bei einem Vergleich des sich entwickelnden Gallengangsystems von gesunden humanen Embryonen und Feten (73) (humane fetale Gangplatte aus der 11. Gestationswoche) mit der Leberpforte bei EHGA zeigten sich ähnliche histologische Strukturen, so dass pathogenetisch eine Störung des Umformungsprozesses der Gangplatte angenommen werden muss, die zu einer Persistenz fetaler Strukturen im Bereich der Leberpforte bei EHGA führt.

Nach der vorliegenden Untersuchung von Rattenembryonen am Entwicklungstag 15 wird vermutet, daß die embryologische Entwicklung der Leberpforte in folgenden 2 Schritten abläuft: Die Differenzierung des intrahepatischen Gallengangsystems findet durch Einsprossen von Mesenchym aus der Gangplatte als Epithel- Mesenchym- Interaktion statt (9).

Anschließend kommt es zur Fusionierung des extra- und intrahepatischen Gallengangsystems im Bereich der späteren Leberpforte (42). Angenommen wird, daß eine Störung dieses Fusionsprozesses des intra- und extrahepatischen Gallengangsystems zur EHGA führt.

An der Kontaktstelle von Mesenchym und Epithel kommt es zur Ausbildung von clusterartigen oder rosettenförmigen Strukturen (42). Bei der Untersuchung von Rattenembryonen an den Entwicklungstagen 15-17 konnten ebenfalls im Bereich der Leberpforte clusterartige oder rosettenförmige Strukturen erkannt werden, die von einsprossendem Mesenchym umgeben sind. Am Entwicklungstag 17 zeigten sich diese clusterartigen Strukturen an der Kontaktstelle von Parenchym und Mesenchym, die Gallengangs-entwicklung war also weiter ins Zentrum des Leberparenchyms fortgeschritten.

Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass ein Zusammenhang der Entstehung der Strukturen mit dem Mesenchym anzunehmen ist.

Im normalen menschlichen fetalen Gallenwegssystem zeigt sich abhängig vom Entwicklungszeitpunkt ein verschiedenes Ausmaß von Mitosen. Bei EHGA zeigt sich eine verminderte „Apoptoseantwort“ auf Cholestase, was möglicherweise hinweisend ist auf eine zugrundeliegende Störung des Prozesses der normalen Gallengangsformation, die zu einer Persistenz fetaler Gallenwegsstrukturen führt. Als Ursache für die Apoptosehemmung wird spekulativ eine spontane Mutation oder eine Schädigung durch Umweltfaktoren angenommen (66).

Da die Morphologie der Gangstrukturen bei EHGA und Rattenembryonen Ähnlichkeiten aufweist, kann eine Persistenz fetaler Gangstrukturen vermutet werden (66). Eine weitere Hypothese, die aus den Befunden abzuleiten ist, vermutet, dass die Bindegewebeinsprossung erneut Gallengänge induziert, die den Charakter von Vorstufen aufweisen (42).

Immunhistochemisch (mit Cytokeratin) konnte gezeigt werden, dass die fetale Gangplatte und die Gallengänge der Leberpforte bei Patienten mit EHGA eine ähnliche Struktur haben. Es konnte gezeigt werden, daß intrahepatische Gallengangstrukturen der Gangplatte den Gallengängen bei EHGA in 20-63% der Fälle sehr ähnlich sind, so daß eine pränatale Entstehung angenommen werden kann (73). Eine weitere immunhistochemische Unter-

suchung (mit Cytokeratin) kam zu dem Ergebnis, daß sich die Gallengänge bei EHGA hinsichtlich ihres Alters zwischen den fetalen und den adulten Gallengangzellen einordnen lassen (44).

Die duktale Platte kann beim Menschen in der 6. Gestationswoche nachgewiesen werden. Sie besteht aus einer Hülle von Gallengangsepithel, die die Äste der portalen Gefäße umgibt. Bei einem Umbildungsprozess dieser Gangplatte, mit Beginn in der 16. Gestationswoche und Progression in die Leberperipherie, wird das definitive intrahepatische Gallengangsystem gebildet. Die großen extrahepatischen Gallengänge im Bereich der Leberpforte, die aus dem hepatischen Divertikel hervorgehen, sind in der 16. Gestationswoche schon vollständig entwickelt. Der Umbildungsprozess setzt sich in die Peripherie des Leberparenchyms in die intrahepatischen Gallengänge bis nach der Geburt fort (67), so dass bei der Geburt die Entwicklung der Gallengänge noch nicht vollständig abgeschlossen ist.

Trotz nachgewiesener Ähnlichkeit der Histologie der Gallengangsstrukturen in der Leberpforte bei EHGA und Rattenembryonen lässt sich keine eindeutige Zuordnung der Gangstrukturen im Bereich der Leberpforte bei EHGA zu den Entwicklungstagen 15-17 erkennen. Im Parenchym erkennt man an Entwicklungstag 17 Gangstrukturen wie sie ebenfalls im Bereich der Fibrosesepten und Glisson'schen Trias bei EHGA zu finden sind. Somit kann eine Entwicklungsstörung der Gangplatte vorliegen, deren Ursache nicht geklärt werden kann.

Zudem wird angenommen, daß isolierte Malformationen der Gangplatte das Resultat einer intrauterinen Schädigung sind, die zu einem Entwicklungsstopp der Gallengänge führt (66).

Angenommen wird, dass eine isolierte Malformation der Gangplatte bei Feten auftritt, die eine Schädigung in der frühen Fetalzeit zeigen und eine Destruktion unreifer Gallengänge zur Folge haben (43).

Im Kontext zu meinen Überlegungen kann die EHGA das Ergebnis einer Störung der Epithel-Mesenchyminteraktion, besonders in der Gangplatte, sein. Diese führt zu einer Störung der Bildung einer adäquaten Bindegewebsmanschette um primitive Gallengangzellen herum, die den Prozeß der normalen Differenzierung in definitive adulte Gallengänge stört (66).

Fetale Gallengangstrukturen sind noch bis zur 4. Lebenswoche bei gesunden Kindern per Leberbiopsie in der Leberpforte nachweisbar (43). Sie könnten sich auch noch postpartal bis

in die 4. Lebenswoche entwickeln (54). Ein Nachweis dieser fetalen Strukturen zu einem späteren Zeitpunkt in der Leberpforte ist pathologisch. Angenommen wird, dass diese Gallengänge eine duktiläre Proliferation darstellen, die für das Neugeborene typisch ist (43). Desmet vermutet bei der duktilären Proliferation bei EHGA eine Malformation der Gangplatte sowie eine duktiläre Metaplasie der Hepatozyten (11). In anderen Studien konnten nicht bei allen Patienten in der Leberpforte Veränderungen gefunden werden, die auf eine Malformation der Gangplatte hinweisen können (43).

Wegen des Vorliegens duktilärer Proliferate in der Leberpforte wird eine Störung des normalen Prozesses der Umformung und Entwicklung der Gallengänge angenommen (32). Zahlreiche duktiläre Proliferate konnten im Bereich der Leberpforte entlang der Kontaktzone zum Parenchym beobachtet werden. Da diese Gangstrukturen morphologische Ähnlichkeit mit Gangstrukturen der Rattenembryonen aufweisen, lässt sich bei der EHGA eine Entwicklungsstörung vermuten.

Nach Schweizer (54) gibt es 2 verschiedene Formen der EHGA, eine fetale/ embryonale mit einer Häufigkeit von 34% und eine perinatale mit einer Häufigkeit von 66%. Diese Formen wurden aus den klinischen Verläufen und morphologischen Befunden in den Excidaten der Leberpforte abgeleitet. Für die unterschiedlichen klinischen Verläufe wird eine zeitlich unterschiedlich determinierte Schädigung angenommen (54). Die fetale entsteht während der fetalen Entwicklung und ist assoziiert mit anderen kongenitalen Anomalien, die perinatale ist möglicherweise durch eine Virusinfektion, Ischämie oder andere Störungen verursacht, die das fast fertig ausgebildete Gallenwegssystem zerstören (51,54). Die fetale Form führt zu einer Progression der Erkrankung in den ersten Lebenstagen verbunden mit dem kongenitalen Fehlen der Durchgängigkeit der Gallengänge, die bei der Laparotomie auffällt (45,54). Diese Patienten zeigen einen frühzeitig auftretenden Ikterus. Bei der postnatalen Form zeigt sich erst ein postnataler Ikterus, in der Leberpforte können (reichlich) Gallengangsrudimente nachgewiesen werden (45,54).

Diese Differenzierung in 2 verschiedene Formen wird in einer anderen Untersuchung (43) ebenfalls berücksichtigt. Dabei wird angenommen, dass eine Malformation der Gangplatte möglicherweise in Fällen auftritt, die eine Schädigung in der frühen Fetalzeit zeigen und eine Destruktion und eine ineffektive Regression unreifer Gallengänge zur Folge haben. Eine sekundäre Atresie tritt danach in Fällen auf, die eine Schädigung zu einem späteren Zeitpunkt

zeigen, die zur Destruktion von voll ausgeformten extra- und intrahepatischen Gallengängen führt (43).

Die histologischen Untersuchungen der Präparate von Kindern mit EHGA ergeben also Hinweise für eine embryonale Entwicklungsstörung. Gallengangstrukturen, die bei Patienten mit EHGA im Bereich der Leberpforte auftreten, haben eine ähnliche Struktur wie Gallengänge, die sich bei Rattenembryonen im Stadium der Gallengangsentwicklung erkennen lassen.

Beim Vergleich der Leberpforte von Kindern mit EHGA und Rattenembryonen konnten an der Kontaktstelle von Parenchym und Bindegewebe in Region III Vorstufen nachgewiesen werden. Diese sind im Bereich der Glisson'schen Trias und in Fibrosesepten ebenfalls erkennbar. Ähnlich wie bei Proliferaten liegt die größte Anzahl bei den jüngsten Patienten vor. Im Verlauf des Beobachtungszeitraums von 8 Wochen lässt sich aber keine eindeutige kontinuierliche Abnahme der Anzahl und Gesamtfläche erkennen. In schmalen Septen lassen sich weniger Vorstufen nachweisen als in breiten. In vielen Fällen ist eine Abschnürung der Vorstufen vom Parenchym erkennbar, wobei sie eine clusterartige oder tubulusförmige Struktur aufweisen. Ähnliche Strukturen lassen sich auch bei den Rattenembryonen erkennen. Die Vorstufen weisen kein Lumen sowie keine Cholestasezeichen auf, so dass ihre Funktion nicht genau beschrieben werden kann. Da Proliferate aber erst 4 Wochen nach der Geburt auftreten, muß angenommen werden, dass sie sekundär reaktiv nach einem embryonalen Muster, induziert durch Mesenchym, entstehen, und nicht Überbleibsel aus der Fetalzeit sind. Die Leber muß dann aber noch fähig sein, embryonale Mechanismen aufzugreifen.

Die Leberpforte bei EHGA zeigte im Bindegewebe verschiedene Muster der Obliteration des D.hepaticus communis und des D.choledochus. Immunhistochemische Untersuchungen mit Anticytokeratin zeigten Ähnlichkeiten von abnormalen Gallengängen der Leberpforte bei EHGA und der sich normal entwickelnden Gallengänge von humanen Feten im 1. Trimenon (65). Vermutet wird, daß die EHGA durch eine Störung des „Remodellingprozesses“ im Leberhilus verursacht ist, mit Persistenz der fetalen Gallengangstrukturen umgeben von Bindegewebe (65).

Ursache für die Störung des Remodellingprozesses der embryologischen Strukturen kann ein Defekt in der Struktur oder der Aktivität eines der intrazellulären Adhäsionssysteme sein.

Teil 2: Histologische Auswertung der Präparate im Hinblick auf eine Korrelation mit dem postoperativem Gallefluss

Für den postoperativen Gallefluss und damit die Prognose sind die Gallengänge in Region II, in der sog. distalen Übergangzone, die bei der Hepatoportoenterostomie die drainierende Fläche der Galleflüssigkeit darstellt, von entscheidender Bedeutung.

Prognosefaktoren bei EHGA

Hier soll die Prognose der Patienten im Verhältnis zu den Größen der Gangstrukturen beurteilt werden. Die Prognose ist abhängig a) von dem Fibrosegrad, b) der Anzahl und Größe der Gallengängchen in der Leberpforte und c) dem Patientenalter (47).

Fibrosegrad zum Zeitpunkt der Operation und Gallefluss

Bei hochgradiger Fibrosierung waren zahlreiche Proliferate erkennbar. Aufgefallen ist, daß bei hochgradiger Fibrosierung und kleiner Anzahl der Proliferate im Vergleich zur Anzahl der Primären Gallengänge ein guter Gallefluss vorliegt. Nach diesen Ergebnissen ist eine starke Proliferation der Gallengänge mit einem schlechten Gallefluss korreliert. Eine immunhistochemische Untersuchung (25) zeigte, daß duktiläre Proliferate einen Prognosefaktor bei EHGA darstellen. Erkannt wurde, daß der Nachweis einer großen Anzahl intrahepatischer Gallengangepithelzellen in der Leber bei EHGA einen schlechten postoperativen Gallefluss zur Folge hat. Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass diese Korrelation ausnahmsweise nicht vorhanden ist.

Die Korrelation des Fibrosegrades zum Zeitpunkt der Operation mit dem postoperativen Gallefluss zeigt, daß ein geringer Fibrosegrad bei Existenz von ausreichend lumenhaltigen Gallengangrudimenten der Leberpforte mit einem guten und andauernden Gallefluss verbunden ist. Bei hochgradiger Fibrose ist jedoch oft kein Gallefluss zu erreichen oder er versiegt binnen weniger Wochen oder Monate wieder (2,30,31,52,55). Gautier (17) zeigte, dass trotz Hepatoportoenterostomie mit einem Gallefluß in 30-40% zu rechnen ist, die Langzeitprognose vom Durchmesser der Gallengänge abhängig ist, aber häufig durch die progrediente Leberschädigung beeinträchtigt wird. Die Untersuchung von Gautier (17) bei 4 Monate alten Patienten zeigt dilatierte intrahepatische Gallengänge, die untereinander keine Kommunikation aufwiesen und zusätzlich durch Granulationsgewebe obliteriert oder durch

dichtes Bindegewebe verlegt wurden. Solche morphologischen Befunde haben eine schlechte Prognose zur Folge.

Der Gallefluss ist nach übereinstimmenden Aussagen vom Fibrosegrad abhängig (4,30,52, 54,55). Je ausgeprägter die Fibrose zum Zeitpunkt der Operation ist, desto niedriger ist die Wahrscheinlichkeit eines guten postoperativen Galleflusses (55). Bei Fibrose II°/ III° zeigt sich in den meisten Fällen ein guter bis mäßiger postoperativer Gallefluss. Bei Fibrose IV° zeigte sich postoperativ meist ein mäßiger bis ausbleibender Gallefluss (55). Dieser Zusammenhang konnte in unserer Untersuchung weitgehend bestätigt werden. Eine Fibrose III° konnte bei Patienten mit gutem und schlechtem Gallefluss nachgewiesen werden. Patient 1 mit Fibrose III° zeigte einen schlechten Gallefluss. Ein 9½ Wochen alter Patient, zeigte bei ebenfalls hochgradiger portaler und septaler Fibrose (III°) noch einen guten postoperativen Gallefluss. Der Unterschied in den Befunden dieser beiden Patienten (Nr.1 und 12) lag in den Größen der Gesamtfläche und der Anzahl der Gallengänge in Region II und III.

Die Untersuchung zeigte folgendes Ergebnis:

Guter Gallefluss tritt auf bei geringer Fibrose und wenigen Proliferaten und gleichem Durchmesser der Gallengänge. Ein schlechter Gallefluss dagegen tritt auf bei starker Fibrose, vielen Proliferaten und gleichgroßem Durchmesser der Gallengänge. Ein Vergleich von Anzahl und Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten zeigte, dass ein guter Gallefluss mit einer eher niedrigen Fläche und Anzahl der Proliferate im Vergleich zu Primären Gallengängen korreliert ist.

Zusammengefasst bedeutet das, dass ein schlechter Gallefluss bei hohem Fibrosegrad, niedriger Anzahl und Gesamtfläche an Primären Gallengängen und hoher Anzahl und Gesamtfläche mit einem schlechten Gallefluss und damit mit einer schlechten Prognose korreliert sind.

Die Progredienz des Leberstrukturumbaus hat auch einen Einfluß auf die Prognose. Je höher der Fibrosegrad zum Zeitpunkt der Operation ist, desto höher ist das Risiko zur Entstehung einer Leberzirrhose. Die Leberzirrhoseentwicklung ist nach bisher vorliegenden Erkenntnissen bei anhaltend gutem postoperativem Galleabfluss nicht mehr als Reaktion auf den Gallestau anzusehen oder Folge der primären Krankheit, sondern Folge der häufigen und schweren Cholangitiden.

Nachgewiesen werden konnte auch, daß zusätzlich zum Fibrosegrad die Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge Einfluss auf den Gallefluss haben. Für die postoperative Galle-drainage und damit die Prognose sind die Gallengänge im Bereich der Fibroseplatte (Region II) sowie in der Übergangzone (Region III) von besonderer Bedeutung. Deshalb wurden innerhalb dieser beiden Regionen, in der distalen und der proximalen Übergangzone, Anzahl und Gesamtfläche sowie der Durchmesser der Gallengänge bestimmt und deren Einfluß auf den Gallefluss untersucht.

Sowohl bei Patienten mit gutem als auch schlechtem Gallefluss waren wenige Primäre Gallengänge in Region II nachzuweisen. Der Durchmesser der Primären Gallengänge war bei gutem Gallefluss (355,99µm) kleiner als bei schlechtem Gallefluss (389,44µm).

Ein Unterschied zeigt sich auch im Hinblick auf die Gallengangproliferate: Patienten mit gutem Gallefluss haben wenige Proliferate in Region III, Patienten mit schlechtem Gallefluss dagegen viele (42). Die Zahl der Gallengangproliferate geht in den ersten 8 Lebenswochen deutlich mit dem Grad der Fibrose einher: Starke Fibrose bedeutet immer eine große Zahl Gallengangproliferate, geringe Fibrose ist mit einer geringen Proliferathäufigkeit korreliert.

Der Zusammenhang von Proliferatzahl und Gallefluss weist darauf hin, dass Proliferate keine Galle drainieren können. Es ist ein frustraner Versuch der Leber, Galle über Proliferatbildung zu drainieren.

Somit kann aus der Untersuchung folgendes Fazit gezogen werden:

Ein guter Gallefluss ist abhängig von geringer Fibrose und wenigen Proliferaten, sowie von gleich grossen Gallengangdurchmessern bei geringer Fibrose.

Ein schlechter Gallefluss liegt vor bei starker Fibrose und vielen Proliferaten, sowie von gleich grossen Gallengangdurchmessern und starker Fibrose.

Die Prognose der EHGA ist wie die eigenen Ergebnisse und Literaturberichte (24,31,36,48) abhängig vom Patientenalter zum Zeitpunkt der Operation, dem Fibrosegrad sowie metrischen und morphologischen Veränderungen der Gallengängchen im Bereich der Glisson'schen Trias und in der Leberpforte (Region II und III) (51).

Ohne Operation führt die Erkrankung innerhalb der ersten beiden Lebensjahre zum Tod. Eine Operation nach dem 90. Lebensjahr kann nur noch in 20% einen guten Gallefluss herstellen (32). Patienten, die älter als 8 Wochen sind, zeigen meist metrische und morphologische Veränderungen der Gallengängchen in der Leberpforte und in der Glisson'schen Trias bei meist vorliegender Fibrose IV° und Zirrhose (51). Dies konnte in der vorliegenden

Untersuchung bestätigt werden: 6 von 11 Patienten, die innerhalb der ersten 60 Lebensstage operiert wurden, zeigten einen guten postoperativen Gallefluss.

Davon wiesen einige Patienten eine hochgradige portale und septale Fibrosierung, aber noch keine Zirrhose, auf. Ein Patient wurde im Alter von 9½ Wochen operiert, zu einem Zeitpunkt, der jenseits dem üblichen optimalen Zeitpunkt von 60 Tagen liegt. Bei diesem Patienten trat ein guter postoperativer Gallefluss auf. Histologisch wurde eine fortgeschrittene portale und septale Fibrose, jedoch keine Zirrhose diagnostiziert. Ebenso wurde eine fortgeschrittene portale und septale Fibrose bei Patienten mit gutem und schlechtem Gallefluss festgestellt, so daß zusätzlich zum Fibrosegrad weitere Faktoren Einfluss auf die Prognose haben müssen (2,30,51,54). Die entscheidende Bedingung dürfte nach den vorhandenen Ergebnissen, die Zahl und Größe der Primären Gallengänge in der Leberpforte sein.

Der Durchmesser der Gallengänge, die in der Leberpforte operativ eröffnet werden können, ist ein wichtiger Prognoseparameter. Eine hervorragende Prognose liegt bei einer Größe der prähilären Gangstrukturen $>400\mu\text{m}$ vor (48,55). Bei einem solchen Durchmesser der Gallengänge ist postoperativ ein guter Gallefluss garantiert. Bei Patienten mit großem Gangdurchmesser sind Gallengänge meist in den lateralen und zentralen Bereichen der Leberpforte erkennbar (51). Andere Studien zeigten einen guten postoperativen Gallefluss bei einer Gallenganggröße von $>350\mu\text{m}$, bei der zahlreiche Gallengänge vorlagen (16) oder bei einer Gallenganggröße $>200\mu\text{m}$ (10) bzw. $150\mu\text{m}$ (6). War der Durchmesser der Gallengänge kleiner als $150\mu\text{m}$, zeigte sich postoperativ nur bei wenigen Patienten ein Gallefluss (6). Diese Resultate ließen sich bei der vorliegenden Untersuchung bestätigen. Die Durchmesser der Gallengänge der Patienten mit gutem Gallefluss lagen im oben genannten Bereich von $>350\mu\text{m}$. Präparate von Patienten mit gutem Gallefluss zeigten einen Durchmesser der Gallengangstrukturen (Primäre Gallengänge) im Bereich der Resektionsfläche der Leberpforte von $310-430\mu\text{m}$. Präparate von Patienten mit schlechtem Gallefluss zeigten einen Durchmesser $>450\mu\text{m}$ (Patient 1 und 6) und $<290\mu\text{m}$ (Patient 4 und 7). Ein schlechter Gallefluß kann also auch bei Patienten mit großem Durchmesser auftreten, während ein kleiner Durchmesser stets einen schlechten Gallefluß zur Folge hat.

Andere Untersuchungen (16,65) konnten diesen Zusammenhang von Gallenganggröße und postoperativem Gallefluss nicht zeigen. In diesen Publikationen (16,65) wird den Lymphgefäßen der Leberpforte eine Rolle für den postoperativen Gallefluss zugeschrieben.

Für den Gallefluss von Bedeutung ist neben dem Fibrosegrad zum Zeitpunkt der Operation zusätzlich die Formation der Gallengänge im Bereich der Leberpforte. Es lassen sich histologisch 4 verschiedene Muster (Pattern) der Gallengänge im Bereich der Leberpforte nachweisen, die nach der Lage der Gallengänge in den zentralen und den lateralen Bereichen der Leberpforte eingeteilt werden (51,55). Patienten mit einer Formation vom Typ I haben eine gute Prognose und zeigen nach 10 Jahren meistens noch einen guten Gallefluss. Bei dieser Formation der Leberpforte liegen Gallengänge in der zentralen, besonders aber in den lateralen Bereichen der Leberpforte vor (55). Ein zum Zeitpunkt der Operation zusätzlich vorliegender niedriger Fibrosegrad verbessert die Prognose weiter. Dieser Befund konnte auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden: Alle Patienten zeigten Primäre Gallengänge in der Leberpforte, so daß kein „Pattern IV“ (keine Gallengänge im Bereich der Leberpforte erkennbar) nachgewiesen werden konnte. Bei einem Patienten konnten allerdings keine Gallengänge in den lateralen Bereichen der Leberpforte, sondern nur in den medialen Bereichen, nachgewiesen werden. Das Verhältnis der Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Formationen der Leberpforte zu der Literatur (51) entspricht der Häufigkeit in der vorliegenden Untersuchung. Abhängig von der Formation der Gallengänge im Bereich der Leberpforte konnte festgestellt werden, dass der Gallefluss bei Vorhandensein von Gallengängen sowohl in den zentralen als auch lateralen Regionen (mäßig bis) gut ist. Ebenso konnte bestätigt werden, daß Gallengangstrukturen der zentralen Zone (Pattern III) alleine nicht ausreichen, um einen dauerhaften Gallefluss zu garantieren (51). Es zeigte sich aber auch, dass nur ein mäßiger postoperativer Gallefluss auftritt, wenn Gallengänge nur in der zentralen Region erkennbar sind (51). Diese Beobachtung konnte auch in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden. Ein Patient (Nr.4), der nur in der zentralen Region der Leberpforte Gallengänge aufwies, zeigte einen schlechten postoperativen Gallefluss. Zusätzlich wies der Patient eine geringe Anzahl an Gallengängen mit geringer Gesamtfläche auf, was die Prognose zusätzlich negativ beeinflusst (51).

Eine sehr große Gesamtfläche der Gallengänge garantiert in der Regel einen guten Gallefluss (51). Trotzdem gibt es Patienten (Nr.6 und 8), die auch bei einer großen Gesamtfläche einen schlechten Gallefluss bekommen. Daraus resultiert die Frage nach weiteren Einflussfaktoren auf den postoperativen Gallefluss (51).

Neben dem Fibrosegrad der Leberpforte und dem Alter zum Operationszeitpunkt sind die Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge in der Leberpforte für die Prognose entscheidend.

Die Gesamtfläche der Gallengänge im Bereich der Leberpforte zeigt eine Korrelation von Formation der Leberpforte mit dem Gallefluss. Eine große Gesamtfläche hat in der Regel einen guten Gallefluss zur Folge, eine geringe einen mäßigen bis schlechten (51). Diese Beobachtung kann mit der vorliegenden Arbeit bestätigt werden.

Eine Ausnahme stellte ein Patient (Nr.1) dar, der die größte Gesamtfläche der Gallengänge in der Leberpforte hatte, und einen schlechten postoperativen Gallefluss ($76880\mu\text{m}^2$) zeigte.

Bei diesem Patienten ließen sich zahlreiche Gallengänge entlang der gesamten Parenchym-Fibrosegrenze nachweisen. Somit ist das Ergebnis der hochgradigen Fibrose, dass trotz großer Gesamtfläche der Gallengänge ein schlechter Gallefluss eintritt.

Auffällig war, daß neben der Gesamtfläche und dem Ausmaß der Fibrose, auch das Verhältnis von Gesamtfläche und Anzahl von Primären Gallengängen zu Proliferaten in Region II und III für die Prognose entscheidend war. Eine gute Prognose haben Patienten, bei denen das Verhältnis von Gesamtfläche und Anzahl der Primären Gallengänge zu den Proliferaten ein niedriges Zahlenverhältnis aufweist. Über den gesamten Zeitraum von 8 Lebenswochen konnte beobachtet werden, daß Patienten mit gutem Gallefluss unabhängig vom Fibrosegrad ein Verhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu den Proliferaten von 2,2x aufweisen. Bei Patienten mit schlechtem Gallefluss lagen die Werte für das Zahlenverhältnis der Anzahl der Primären Gallengänge zu Proliferaten 3,3x höher (1:2-5). Das Verhältnis der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu den Proliferaten ergab bei gutem Gallefluss eine 1,7x höhere Gesamtfläche für Proliferate im Vergleich zu Primären Gallengängen, bei Patienten mit schlechtem Gallefluss eine 2,7x höhere Gesamtfläche für die Proliferate.

Auch der 9½ Wochen alte Patient (Nr.12) wies das bei Patienten mit gutem Gallefluss festgestellte Zahlenverhältnis auf.

Ein weiterer prognostischer Faktor für die Überlebensrate sind zahlreiche gut entwickelte (ultrastrukturelle Untersuchung) intrahepatische Gallekanalikuli (7). Es konnten im Parenchym nahe der Fibroseplatte und im Parenchym nahe der Glisson'schen Trias zahlreiche Gallekanalikuli mit Cholestasezeichen nachgewiesen werden. Diese waren von schmalen Bindegewebe umgeben und lagen bei Patienten mit gutem und schlechtem postoperativem Gallefluss vor. In diesen Regionen hatte es den Anschein, daß sich nach Einsprossung des Bindegewebes Gallengängen gebildet haben. In verschiedenen Untersuchungen wurde gezeigt, daß Leberepithelien und intrahepatische Gallengangepithelien aus derselben Zellart entstehen (8,45). Neben diesen Gallekanalikuli mit Cholestasezeichen lagen Zellen, die Anzeichen der Veränderung aufwiesen. Diese Zellen waren ebenfalls von Bindegewebe

umgeben. Eine Aussage zur Funktion kann aber nicht gemacht werden. Zum Teil zeigten sich im Bereich der Fibroseplatte nahe der Gallekanalikuli Proliferate. Eine Verbindung zu diesen konnte nicht gesehen werden.

Die Patienten 1 und 12 wiesen eine hochgradige Fibrose der Leberpforte auf. Beim Vergleich von Anzahl und Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten dieser beiden Patienten fiel auf, dass Patient 12 mit gutem Gallefluss eine niedrigere Anzahl und Gesamtfläche der Proliferate im Vergleich zu Primären Gallengängen hatte als Patient 1, was den Einfluss von Fibrose, Gesamtzahl und Anzahl der Gallengänge für den postoperativen Gallefluss bestärkt.

Zusätzlich ist die Prognose abhängig vom Patientenalter. Bei Durchführung der Hepatoportoenterostomie vor der 7. Lebenswoche steigt die Erfolgsrate der Operation an (2,30,36,52,54). Bei einer Operation innerhalb der ersten 60 Lebenstage kann durch Hepatoportoenterostomie in nahezu 80% ein guter postoperativer Gallefluss erreicht werden (35). Auch nach 75 Tagen kann eine Hepatoportoenterostomie mit gutem Erfolg durchgeführt werden (46). Liegt zum Zeitpunkt der Operation aber bereits eine Zirrhose vor, kann kein anhaltend guter Gallefluß erwartet werden, gegebenenfalls ergibt sich dann die Indikation zur Lebertransplantation (2,30).

Einfluss der Morphologie auf die Funktion?

Präexistente Gallengänge sind im Bereich der Leberpforte vorhanden und sind für den postoperativen Gallefluss und somit den Erfolg der Hepatoportoenterostomie unbedingte Voraussetzung (36). In unserer Untersuchung konnte festgestellt werden, daß Patienten mit gutem Gallefluss in Region II (Fibroseplatte) 9-17 Primäre Gallengänge hatten. Patienten mit schlechtem Gallefluss dagegen wiesen eine niedrigere Anzahl an Primären Gallengängen auf. Die Korrelation der Anzahl und Gesamtfläche der Proliferate mit dem Gallefluss zeigte folgendes Ergebnis: Duktuläre Proliferate lassen sich im Bereich der Leberpforte, den Fibrosesepten und der Glisson'schen Trias erkennen (32). Es lässt sich jedoch kein Zusammenhang erkennen, ob schlechter Gallefluss zu einer starken Proliferation der Gallengänge führt.

In den Regionen II und III ist die Anzahl der Proliferate unabhängig zum Gallefluss. Somit hat eine hohe Anzahl an Proliferaten nicht in allen Fällen einen guten Gallefluss zur Folge.

Eine immunhistochemische Untersuchung zeigte, daß eine erhöhte Anzahl an Gallengangsproliferaten im Parenchym zum Zeitpunkt der Operation mit einer schlechten

Prognose bei schlechtem postoperativem Gallefluss einhergeht (25). Dieser Zusammenhang konnte bestätigt werden: Eine hohe Anzahl und Gesamtfläche an Proliferaten in Region II hatte unabhängig vom Alter der Patienten einen schlechten postoperativen Gallefluss zur Folge.

Das Bild der Primär- Biliären Zirrhose im Vergleich zur EHGA unter pathogenetischen Gesichtspunkten

Die Primär- Biliäre Zirrhose (PBC) ist eine chronische Lebererkrankung, die mit einer Destruktion der intrahepatischen Gallengänge einhergeht. Dabei wird angenommen, daß ein initiales unbekanntes schädigendes Agens (wie Viren, Cytokine, Ischämie, etc.) das Gallengangsepithel schädigt und ein Ausströmen der Gallengangepithelantigene verursacht. Diese Antigene werden dann von dendritischen Zellen und Makrophagen in der Leberpforte prozessiert (2). Bei der Erkrankung konnten u.a. Antikörper gegen Gallengangsepithel entdeckt werden. Die Erkrankung manifestiert sich meist im 50.-60 Lebensjahr und führt zu einer biliären Leberzirrhose. Als Ursache wird eine Autoaggression angenommen. Die Histologie der Leber bei PBC zeigt abhängig vom Stadium der Erkrankung eine duktiläre Proliferation im Periportalfeld. Im weiteren Verlauf verarmen die Periportalfelder an Gallengängen und der bindegewebige Umbau des Leberparenchyms schreitet fort, was dem alten Verschlußfeld bei EHGA ähnelt (54). Die Histologie der PBC ähnelt der Histologie bei EHGA (Abb.35). In den Fibrosesepten finden sich zahlreiche duktiläre Proliferate. Bei EHGA ist wenig zu T-zellinfiltraten, Cytokinen, Proteasen bei Epithelschädigung bekannt (2). Möglicherweise liegt eine ähnliche Pathogenese der beiden Erkrankungen vor. In einigen Untersuchungen wurde der Schädigung des Gallengangepithels eine Rolle bei der Pathogenese der EHGA zugeschrieben (33), die ebenfalls bei der PBC gesehen wurde und bei dieser zu einer Antigenpräsentation mit nachfolgender Autoantikörperbildung führt.

Schlussfolgerungen und Konsequenzen

1. Pathognomonisch für die EHGA sind marginal angeordnete duktiläre Proliferate, eine Lymphangiektasie im Periportalfeld, ein spärliches entzündliches Infiltrat, die Bindegewebsvermehrung und Gallepfröpfe in den Gallekanalikuli. Das herausragende morphologische Merkmal ist aber die duktiläre Proliferation (2,54,73). Daher stellt sich die Frage, ob sie eine pathogenetische Bedeutung haben. Auf ihre pathogenetische Bedeutung konzentrierte sich die vorliegende Untersuchung, die mit der Frage antrat, ob duktiläre Proliferate morphogenetisch relevant sind. Eindeutig kann festgestellt werden, dass Duktuli keine Galledrainage bewirken

können (fehlendes Lumen, keine Gallepfropfe, fehlende Verbindung zu den Gallengängen der Glisson'schen Trias).

Eine endgültige Aussage zur Pathogenese der EHGA ist auch aus den vorliegenden Untersuchungen nicht möglich. Die vorliegenden Befunde sprechen aber dafür, dass sich die Duktuli aus marginalen Hepatozyten unter dem Einfluß des proliferierenden Mesenchyms bilden.

2. Bei einem Vergleich der morphologischen Befunde bei EHGA mit embryologischen Entwicklungsstufen des Gallenwegssystems menschlicher Embryonen (18) und der Rattenembryonen (eigene, hier vorgelegte Befunde) fällt die deutliche morphologische Ähnlichkeit der Gallengangsstrukturen, d.h. der Proliferate und Vorstufen der Gallengangsproliferate auf: Proliferate in der Leberpforte und marginal des Leberläppchens werden von einer mesenchymalen Reaktion begleitet. Es kann jedoch keine eindeutige Zuordnung der Proliferate zu einem bestimmten Entwicklungstag erkannt werden, zumal sie sich erst in der 3./4. Lebenswoche entwickeln. Das späte Auftreten der Proliferate und Vorstufen erst in der 3./4. Lebenswoche und die Entwicklung von Proliferaten und Vorstufen in den sekundär entstehenden mesenchymalen Septen weist darauf hin, dass sie weniger als embryonale Relikte erklärbar sind, vielmehr muß eine reaktive Proliferation vermutet werden, die embryologische Merkmale nachahmt. Insofern sind marginale und septale Proliferate nicht Zeichen eines embryonalen Entwicklungsstops, sondern Zeichen einer sekundären Reaktion mit Merkmalen der embryonalen Entwicklung.

Eine andere Deutung lassen die Proliferate in der hilären Fibroseplatte zu. Sie könnten Ausdruck eines embryonalen Entwicklungsstops und identisch zur Gallengangsentwicklung in der hilären Platte, der Gallengangsplatte des Rattenembryos, sein.

Die Frage, ob es sich um ein embryonales Stadium als Zeichen des Entwicklungsstops oder um eine reaktive Proliferation in Form der Nachahmung eines embryonalen Vorgangs handelt, lässt sich mit den in der vorliegenden Arbeit angewandten Methoden nicht beantworten.

Um diese Frage beantworten zu können ist eine spezielle Untersuchung der Leberpforte von Patienten mit EHGA und Rattenembryonen notwendig, bei der das Alter der Gallengänge im Bereich der hilären Fibroseplatte sowie der Fibrosesepten bestimmt wird.

Deshalb führt eine weitere Arbeitsgruppe (unserer Klinik) zur Zeit eine immunhistochemische Untersuchung (c-met-Färbung) an Präparaten bei EHGA durch, mit der eine Zuordnung der Gangstrukturen zu einem bestimmten Entwicklungsalter erreicht werden soll. Dabei wird ein Antikörper gegen das Zytokeratin des Gallengangepithels verwendet, der die Gallengänge markiert (44,65). Anhand der Intensität der Anfärbung kann das Alter der Gallengangsstrukturen bestimmt werden, wodurch das Alter der Gallengangsstrukturen in der Leberpforte und im Leberparenchym bei EHGA und Rattenembryonen bestimmt werden kann.

Es soll beurteilt werden, ob und in welcher Lokalisation sich in der Leberpforte und im Leberparenchym bei Patienten mit EHGA Gallengangsstrukturen unterschiedlichen Alters auch der Embryonalzeit nachweisen lassen.

Liegen im Bereich der hilären Platte sowie im Parenchym bei EHGA Gallengangsstrukturen vor, die dieselbe Farbtintensität wie bei Rattenembryonen aufweisen, weisen sie bei EHGA ein embryonales Alter auf. Dieser Befund spricht dann für einen Stop der embryonalen Entwicklung und somit für die Persistenz der Gallengangsentwicklung auf derselben embryonalen Altersstufe.

Liegen aber im Bereich der hilären Platte sowie im Parenchym bei EHGA Gallengangsstrukturen unterschiedlichen Alters vor, spricht dieser Befund für eine sekundäre, reaktive Proliferation der Gallengänge bei EHGA. Es entwickeln sich zu unterschiedlichen Zeiten, z.B. durch Mesenchymeinsprossung, Gallengänge (unter Nachahmung embryonaler Mechanismen).

Abhängig von dieser Untersuchung kann eine Aussage getroffen werden, ob sich im zeitlichen Verlauf der Erkrankung neue Gallengänge in der Leberpforte und im Leberparenchym bilden oder ein Entwicklungsstop der Gallengänge vorliegt.

6. Zusammenfassung

Die Ergebnisse lassen Ätiologie und Pathogenese der Extrahepatischen Gallengangsatresie (EHGA) nicht schlüssig formulieren. Anhand der Ergebnisse lässt sich aber eine Entwicklungsstörung der embryonalen/ fetalen Vorstufen der Gallengänge als wahrscheinlichste Ursache anerkennen.

Als mögliche Auslöser der Erkrankung wurden bisher virale, immunologische, ischämische, morphogenetische und genetische Ursachen in Betracht gezogen. Nahezu alle diese Aspekte zeigen Widersprüche in der Literatur, wobei es für die embryonale/ fetale also morphogenetische Entstehungsform bisher keine eindeutigen Widersprüche gibt.

Dabei wird angenommen, dass es in der embryologischen Phase der Gallengangsentwicklung zu einem Entwicklungsstopp kommt, so dass die Gallengänge sich nicht vollständig entwickeln können und auf einer fetalen Entwicklungsstufe stehen bleiben. Dieses stellt einen Reifungsblock der Gallengänge während der Entwicklungsphase dar.

Ziel dieser Arbeit ist es, den morphogenetischen Aspekt im Hinblick auf die Pathogenese und Pathophysiologie der EHGA zu untersuchen. Da dieser Bereich der pathogenetischen Diskussion bisher nur marginal bearbeitet worden ist, lag es nahe diesen morphogenetischen Aspekt aufzugreifen. Dazu wurden histologische Präparate aus der Leberpforte von Patienten mit EHGA im Alter von 2½- 7½ Wochen und von Rattenembryonen aus den Carnegiestadien 20- 23 vergleichend untersucht. Der Vergleich der Histologie der Leberpforte von EHGA und Rattenembryonen sollte zeigen, ob sich bei dieser Erkrankung in der Leberpforte Entwicklungsstufen aus der Embryonalzeit (erkennbar bei den Rattenembryonen) nachweisen lassen, ob die EHGA also ein embryonales Stadium präsentiert oder imitiert.

Die Frage lautete, ob die Veränderungen der Gallengänge und des Leberparenchyms a) Folge einer primär persistierenden Erkrankung, b) Folge des biliären Staus, c) Folge der mesenchymalen Proliferation sind.

Der erste und der zweite Aspekt sollen hier nicht weiter verfolgt werden. Vielmehr konzentriert sich die Aussage auf die Frage, ob analog zum Rattenembryo eine Beziehung zwischen der Entwicklung der Gallengangsstrukturen und dem Mesenchym besteht. Diese Frage enthält zwei Teile:

1. handelt es sich bei der EHGA um eine embryonale Entwicklungs- und Differenzierungsstörung durch einen mesenchymalen Defekt?

2. handelt es sich um eine Neuentwicklung von Gallengangsstrukturen als Folge der mesenchymalen Induktion?

Folgende Aspekte wurden besonders beachtet: Morphologie, Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge in den Regionen II (Fibroseplatte) und III (Übergangszone), um den Einfluss des Bindegewebes auf die Gallengänge und deren Entwicklung zu erkennen. Zur Beurteilung des klinischen Verlaufs wurde der postoperative Gallefluss der Patienten berücksichtigt und untersucht, ob die Histologie der Leberpforte, die Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge eine Korrelation liefert.

Anschließend wurde ein Vergleich der Histologie der Leberpforte der Patienten und der Rattenembryonen durchgeführt, um einen Hinweis darauf zu erhalten, ob bei EHGA noch Strukturen aus dem Embryonalstadium vorhanden sind oder neu entstehen. Deshalb wurde untersucht, ob sich entlang dieses Bindegewebes ebenso Gallengänge mit einer Morphologie nachweisen lassen, die den Vorstufen der Gallengänge bei Rattenembryonen entspricht. Rattenembryonen gelten wegen der Ähnlichkeit ihrer embryologischen Entwicklung der Leberpforte in Bezug auf den Menschen als geeignete Vergleichsgruppe.

Fazit:

I. Festgestellt wurde bei Beurteilung von Histologie und Funktion der Gallengänge, dass der Grad der Fibrose und nicht der Durchmesser der Primären Gallengänge besonderen Einfluß auf die Prognose hat. Bei gleichem Durchmesser der Primären Gallengänge und höherem Fibrosegrad lag ein schlechter Gallefluss vor. Bei niedrigem Fibrosegrad und gleichem Gangdurchmesser zeigte sich ein guter Gallefluss.

II. Zusätzlich konnte ein Zusammenhang von Fibrosegrad, Anzahl und Gesamtfläche der Gallengänge, sowie dem Gallefluss festgestellt werden:

1. Ein guter Gallefluss liegt bei geringer Fibrose und wenigen Proliferaten vor,
2. ein schlechter Gallefluss liegt bei starker Fibrose und vielen Proliferaten vor,
3. ein guter Gallefluss liegt bei gleichem Gangdurchmesser und geringer Fibrose vor,
4. ein schlechter Gallefluss liegt bei gleichem Gangdurchmesser und starker Fibrose vor.

Ergebnis: Der gute Gallefluss ist mit geringer Fibrose, wenigen Proliferaten und gleichem Gangdurchmesser verbunden.

Der schlechte Gallefluss ist mit hohem Fibrosegrad, vielen Proliferaten und gleichem Gangdurchmesser verbunden.

III. Der Vergleich der Histologie der Leberpforte bei EHGA mit den Befunden der Rattenembryonen zeigte eine Ähnlichkeit der Gallengangsstrukturen. Entlang der Leberpforte konnten diese Gangstrukturen nachgewiesen werden, die eine ähnliche Struktur wie bei EHGA aufwiesen. Aus diesem Grund kann eine Reifungsstörung oder Entwicklungsstörung der Gallengänge bei EHGA angenommen werden, die zu einem Entwicklungsstopp der Gallengänge in einem embryonalen/ fetalen Stadium führt.

Für diese Aussage gibt es folgende Ergebnisse:

1. Bei Rattenembryonen entwickeln sich die extrahepatischen Gallengangstrukturen (einschließlich der großen intrahepatischen Gallengänge) in Verbindung mit dem aus dem hepatischen Divertikel in die Leber einsprossenden Mesenchym. Die Untersuchungen von M. Petersen, U. Drews und P. Schweizer geben deutliche Hinweise, daß die Gallengangsentwicklung und Differenzierung mesenchymal induziert und gesteuert wird. Die sich aus dem hepatischen Divertikel entwickelnden Gallengänge (D. choledochus, D. hepaticus communis, Dd. hepatici, große intrahepatische Gallengänge und Primäre Gallengänge in den Periportalfeldern) verbinden sich mit den Gallengängchen (Gallekanalikuli) der Leberläppchen, die mit großer Wahrscheinlichkeit aus Leberzellbalken entstehen. Bei Rattenembryonen der Entwicklungsstadien 15- 17 konnte die Entwicklung der Gallengänge, die in diesem Zeitraum entlang des aus dem Mesenchym ins Parenchym der Leber einsprossenden Bindegewebes stattfindet, beobachtet werden. Diese Gangstrukturen zeigten sich an der Kontaktzone von Parenchym und Mesenchym und ließen sich im späteren Entwicklungszeitraum tiefer im Parenchym entlang des einsprossenden Mesenchyms erkennen.
2. Bei der EHGA kommt es zu einer deutlichen Vermehrung der Gallengangsproliferate und ihrer Vorstufen in Verbindung mit einer Vermehrung des Mesenchyms der Periportalfelder und der Septen, die in die Leberläppchen einwachsen. Im dichten Bindegewebe zeigten sich entlang der Parenchym- Fibrosegrenze zahlreiche Proliferate, die z.T. eine Verbindung zum Parenchym aufwiesen. Sowohl in schmalen als auch in breiten Fibrosesepten liegen zahlreiche Proliferate und Vorstufen an der Kontaktzone zum Parenchym. Proliferate und Vorstufen lagen ebenfalls im Randbereich der Glisson'schen Trias vor. Entlang der bindegewebigen Septen formieren sich Leberzellbalken zu tubulären Strukturen, die mit den Gallengangsproliferaten Verbindungen aufweisen. Zudem zeigen die vorliegenden Untersuchungen, daß sich solche tubulären Leberzellbalkenstrukturen an der Peripherie des Leberläppchens abschnüren und zu Gallengangsproliferaten

differenzieren. Damit zeigt sich auf der einen Seite bei der Entstehung der Gallengangsatriesie, daß trotz Vermehrung des Bindegewebes, beispielsweise in der Region des D. choledochus (Region I), die embryologisch dem hepatischen Divertikel entspricht, und trotz einer enormen Vermehrung des Bindegewebes in der hilären Platte sowie in den Periportalfeldern keine Entwicklung und Differenzierung normaler Gallengänge abläuft. Aus dieser Beobachtung kann postuliert werden, daß ein embryonaler Defekt zu dieser Pathologie führt. Auf der anderen Seite kann beobachtet werden, daß die Vermehrung des Bindegewebes besonders an der Grenzzone zwischen hilärer Platte und Leberparenchym aber auch an der Grenzfläche zwischen Periportalfeld und Leberläppchen und in den septalen Bindegewebsstraßen neue Gallengangsformationen, nämlich die Gallengangsproliferate oder Ductuli entstehen. Im fibrosenahen Parenchym ließen sich Gallekanalikuli nachweisen, die keine Verbindung zu anderen Gallengangsstrukturen aufwiesen. Z.T. zeigten sie Cholestasezeichen, so dass ein funktionsfähiges Gangsystem mit Abflussstörung angenommen werden muss. Ebenso ließ sich die Progredienz der Erkrankung zeigen. Ein älterer Patient (Alter 9½ Wochen) mit hochgradiger Fibrose und angedeuteter Ausbildung von Pseudolobuli zeigte die Anzeichen der Entwicklung einer Zirrhose.

Neben dem Operationszeitpunkt und der Ausprägung der Fibrose ist noch die Größe der Gallengänge in der Leberpforte für die Prognose wichtig. Einige Patienten mit hochgradiger Fibrose der Leberpforte zeigten einen guten oder auch schlechten postoperativen Gallefluss. Aufgefallen ist bei diesen Patienten der Unterschied von Gesamtfläche und Anzahl der Gallengänge in der Leberpforte. Bei einem Vergleich der Anzahl und der Gesamtfläche der Primären Gallengänge zu Proliferaten zeigte sich, dass ein kleineres Verhältnis der beiden Gallengangarten eher einen guten Gallefluss zur Folge hat, so dass ein Zusammenhang von Anzahl der duktilären Proliferate und dem Gallefluss gesehen werden kann. Liegt eine hohe Anzahl an duktilären Proliferaten vor, bei gleichzeitig niedriger Anzahl an Primären Gallengängen zeigt sich meist ein schlechter postoperativer Gallefluss.

Bei Rattenembryonen wurde die Entwicklung der Gallengänge an den Entwicklungstagen 15-17 untersucht. In diesem Zeitraum konnten entlang der Leberpforte Gangstrukturen nachgewiesen werden, die eine ähnliche Struktur wie bei EHGA aufwiesen. Wie bei den Rattenembryonen lassen sich die Gallengänge bei EHGA nahe des Parenchyms entlang des Bindegewebes erkennen.

Wenn diese These stimmt, dann würde auf der distalen Seite die Induktion der Gallengangsentwicklung nicht normal ablaufen, auf der anderen Seite bestünde aber eine Induktion einer neuen Gallenwegsentwicklung.

Unter morphogenetischen Aspekten wären die Befunde der EHGA auf der einen Seite mit einer ausbleibenden oder verminderten Induktion der Gallengangsentwicklung durch Mesenchym erklärbar, auf der anderen Seite würden die bei Rattenembryonen beobachteten mesenchymalen Induktionsmechanismen zur Anwendung kommen.

Eine Zuordnung der Gangstrukturen bei EHGA zu einem bestimmten Entwicklungsstadium der Rattenembryonen war nicht eindeutig möglich.

Da die HOPA- Färbung zwar eine gute Differenzierung von Bindegewebe und Parenchym erlaubt, jedoch keine Bestimmung des Alters der Gallengänge ermöglicht, kann keine Aussage zum Alter der nachgewiesenen Gallengangsstrukturen gemacht werden. Deshalb ist auch keine Aussage darüber möglich, ob die Gallengänge bei der EHGA embryonal oder reaktiv sind. Die Altersbestimmung ist für die Aussage, ob sich im Verlauf der Erkrankung entlang des Bindegewebes Gallengänge entwickeln, wichtig und sich bei EHGA aus diesem Grund im Bereich der Leberpforte Gallengänge verschiedenen Alters nachweisen lassen.

Deshalb führte eine weitere Arbeitsgruppe eine immunhistochemische Untersuchung (c-met-Färbung) an Präparaten derselben Patienten durch. Dabei wird ein Anticytokeratinantikörper verwendet, der an Gallengangepithelzellen andockt und diese so markiert. Mit dieser Färbung kann das Alter der Gallengänge in der Leberpforte und im Leberparenchym bestimmt werden. Damit soll beurteilt werden, ob und in welcher Lokalisation sich in der Leberpforte und im Leberparenchym bei Patienten mit EHGA Gallengänge unterschiedlichen Alters nachweisen lassen. Lassen sich damit bei EHGA im Bereich der Leberpforte Gallengänge desselben Alters nachweisen, liegt bei der EHGA ein Entwicklungsstopp vor, der zu einer Persistenz der Entwicklung der Gallengänge auf einer embryonalen Entwicklungsstufe führt.

Lassen sich bei dieser Untersuchung aber Gallengänge verschiedener Altersstufen nachweisen, handelt es sich um eine sekundär reaktive Gallengangsentwicklung. Somit kommt es zu verschiedenen Zeiten und an verschiedenen Lokalisationen im Bereich der Leberpforte zu einer Proliferation der Gallengänge.

7. Literaturverzeichnis

1. Azar-G, Beneck-D, Lane-B, Markowitz-J, Daum-F, Kahn-E, 2002. Atypical morphologic presentation of biliary atresia and value of serial liver biopsies. *J of Pediatr Gastroenterol and Nutr*, 34:212- 215
2. Balistreri-WF, Grand-R, Hoofnagle-JH, Suchy-FJ, Ryckman-FC, Perlmutter-DH, Sokol-RJ, 1996. Biliary atresia: Current concepts and research directions, Summary of a symposium, *Hepatology Vol 23, No6*, 1682-1692
3. Balistreri-WF, Neonatal cholestasis; *J. of Pediatrics* 1985; 106: 171-184
4. Bates-MD, Bucuvalas-JC, Alonso-MH, Ryckman-FC, 1998. Biliary atresia: Pathogenesis and treatment. *Semin in liv disease*, Vol 18, No3, 281-293
5. Bobo-L, Ojeh-C, Chiu-D, Machado-A, Colombani-P, Schwarz-K; 1997, Lack of evidence for rotavirus by polymerase chain reaction/enzyme immunoassay of hepatobiliary samples from children with biliary atresia. *Pediatr-Res.* 1997 Feb; 41(2):229-34
6. Chandra-RS, Altman-RP; Ductal remnants in extrahepatic biliary atresia: a histopathologic study with clinical correlation; *J Pediatr.* 1978; 93:196-200
7. Chen-J, Li-G, Liu-J, Wu-Y; Ultrastructure of intrahepatic biliary canaliculi and prognosis of congenital biliary atresia, *Chin Med J (Engl)* 2001 Sep; 114(9):991-3
8. Cocjin-J, Rosenthal-P, Buslon-V, Luk-L, Barajas-L, Geller-SA, Ruebner-B, French-S, 1996. Bile ductule formation in fetal, neonatal, and infant livers compared with extrahepatic biliary atresia. *Hepatology*, Vol 24, No 3, 568-574
9. Crosby-HA, Hubscher-SG, Joplin-RE, Kelly-DA, Strain-AJ, 1998. Immunolocalization of OV-6, a putative progenitor cell marker in human fetal and diseased pediatric liver, *Hepatology Vol 28, No 4*, 980-985
10. Deguchi-E, Yanagihara-J, Iwai-N, 1990. Bile duct patterns in the hilar region of the liver in two cases of biliary atresia. *J of Pediatr Surg*, Vol 25, No 3, 307-310
11. Desmet-VJ, Cholangiopathies: past, present and future. *Semin Liver Dis*, 1987, 7:67-76
12. Desmet-VJ, Congenital disease of intrahepatic bile ducts: variations on the theme ductal plate malformation, *Hepatology* 1992, 16: 1069-83
13. Fischler-B, Papadogiannakis-N, Nemeth-A, 2001; Aetiological factors in neonatal cholestasis; *Acta Paediatr* 90; 88- 92
14. Gautier-M; Atresia of the extrahepatic bile ducts. Etiological hypothesis founded on a histological study of 130 fibrous remnants. *Arch Fr Pediatr* 1979 Nov; 36(9Suppl): III-XII
15. Gautier-M, Elliot-N, Extrahepatic biliary atresia. Morphological study of 98 biliary remnants, *Arch Pathol Lab Med* 1981; 105: 397-402.

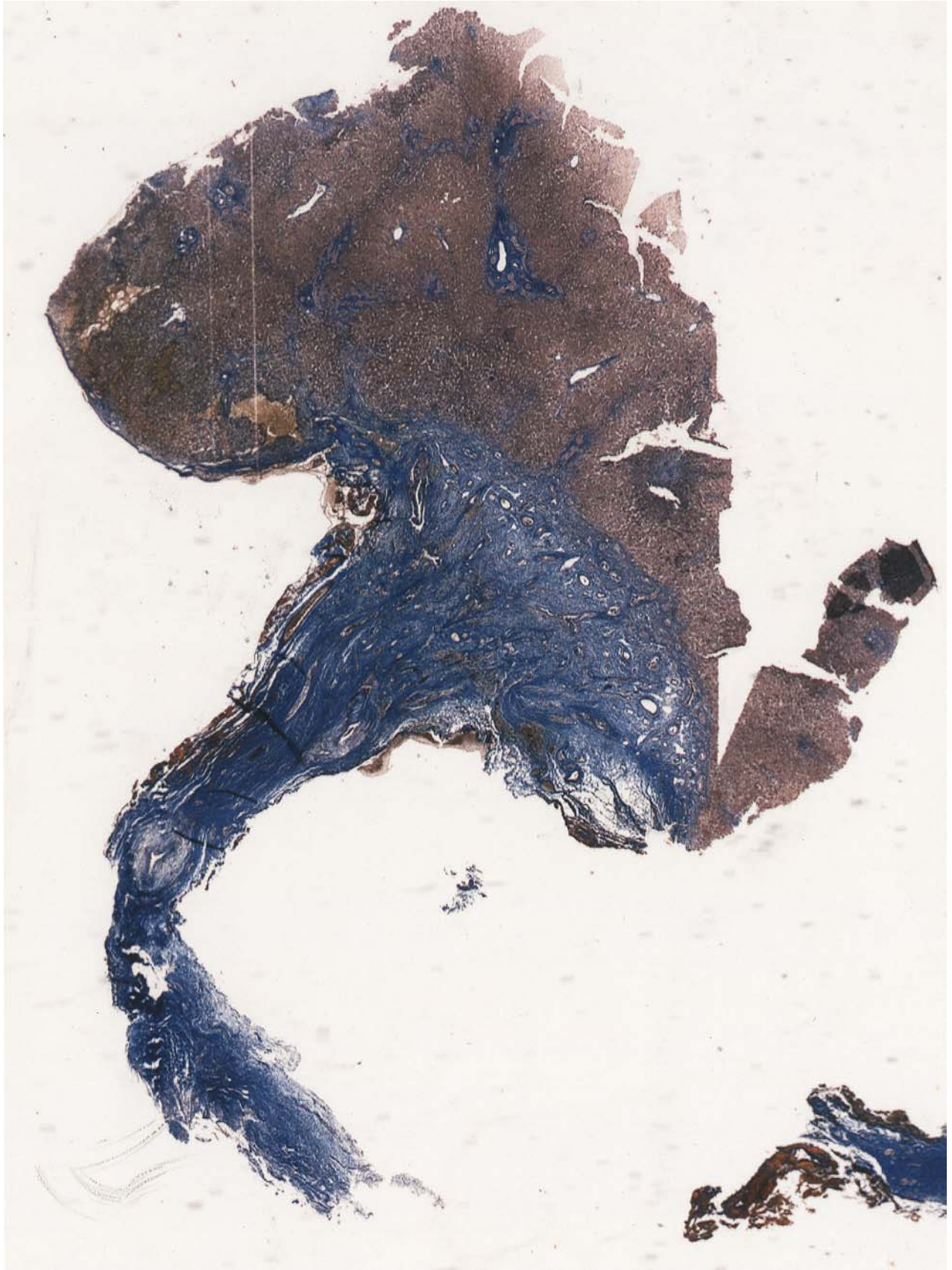
16. Gautier-M, Jehan-P, Odievre-M, 1976. Histologic study of biliary fibrous remnants in 48 cases of extrahepatic biliary atresia: Correlation with postoperative bile flow restoration. *J of Pediatrics*, Vol 89, No 5, 704-709
17. Gautier-M, Moitier-G, Odievre-M, 1980. "Uncorrectable" Extrahepatic biliary atresia: relationship between intrahepatic bile duct pattern and surgery. *J of Pediatr Surg*, Vol 15, No 2, 129-132
18. Godlewski-G, Gaubert-Cristol-R, Rouy-S, Prudhomme-M, 1997. Liver development in the rat and in man during the embryonic period (Carnegie stages 11- 23), *Microscopy res and technique* 39: 314- 327
19. Hannam-S, McDonell-M, Rennie-JM, Investigation of prolonged neonatal jaundice, 2000, *Acta Pediatr* 89: 694-7
20. Ho C-W, Shioda-K, Shirasaki-K, Takahashi-S, Tokimatsu-S, Maeda-K, 1993. The pathogenesis of biliary atresia: a morphological study of hepatobiliary system and the hepatic artery. *J of Pediatr Gastroenterol Nutr*, Vol. 16, No.1
21. Hossain-M, Murahashi-O, Ando-H, Iio-K, Kaneko-K, Ito-T, 1995. Immunohistochemical study of proliferating cell nuclear antigen in hepatocytes of biliary atresia: a parameter to predict clinical outcome. *J of Pediatr Surg*, Vol 30, No 9, 1297-1301
22. Jessberger-N; 2001, Immunhistochemische Untersuchungen zur Morphologie und Pathogenese der Extrahepatischen Gallengangsatresie; Inauguraldissertation, Universität Tübingen
23. Karrer-FM, Price-MR, Bensard-DD, Sokol-RJ, Narkewicz-MR, Smith-DJ, Lilly-JR, 1996. Long-term results with the Kasai operation for biliary atresia. *Arch Surg*, 131: 493-496
24. Kasai-M, 1974. Treatment of biliary atresia. *Prog. Pediatr. Surg* 6, 1974,5
25. Kinugasa-Y, Nakashima-Y, Matsuo-S, Shono-K, Suita-S, Sueishi-K, 1999. Bile ductular proliferation as a prognostic factor in biliary atresia: an immunohistochemical assessment. *J of Pediatr Surg*, Vol 34, No 11, 1715-1720
26. Klippel-CH (1972), A new theory of biliary atresia, *J Pediatr Surg* 7: 651-53
27. Lamireau-T, LeBail-B, Boussarie-L, Fabre-M, Vergnes-P, Bernard-O, Gautier-F, Bioulac-Sage-P, Rosenbaum-J, 1999. Expression of collagens type I and IV, osteonectin and transforming growth factor beta-1 (TGF β 1) in biliary atresia and paucity of intrahepatic bile ducts during infancy. *J of hepatology* 31: 248-255
28. Landing-BH, 1974, Considerations of the pathogenesis of neonatal hepatitis, biliary atresia and choledochal cyst- The concept of infantile obstructive cholangiopathy. *Prog. Pediatr. Surg.* 6, 1974, 113
29. Landing-BH, Wells-TR, Ramicone-E; 1985, Time course of the intrahepatic lesion of extrahepatic biliary atresia: morphometric study; *Pediatr Pathol* 1985;4(3-4):309-19

30. Lang-T, Kappler-M, Dietz-HG, Harms-HK, Bertele-Harms-RM,2000. Biliary atresia: Which factors predict the success of a Kasai operation? An analysis of 36 patients. *Eur J Med res* 4: 110-114
31. Lünzmann-K, Schweizer-P, 1999. The Influence of Cholangitis on the Prognosis of Extrahepatic Biliary atresia. *Eur J Pediatr Surg* 9, 19-23
32. McEvoy-CF, Suchy-FJ;1996, Biliary tract disease in children, *Pediatric Clinics of North America*, Vol.43, Number 1
33. Morse-M, Vacanti-JP,1988. Time-lapse photography: a novel tool to study normal morphogenesis and the diseased hepatobiliary system in children. *J of Pediatr Surg*, Vol 23, No 1, 69- 72
34. Nio-M, Ohi-R, Shimaoka-S; 1997; The outcome of surgery for biliary atresia and the current status of long-term survivors. *Tohoku J Exp Med* 1997; 181: 235-244
35. Ohi-R, Hanamatsu-M, Mochizuki-I, Prognosis in the treatment of biliary atresia, 1985, *World J Surg* 9: 285-93
36. Ohi-R, Ibrahim-M, 1992; „Biliary atresia“, *Seminars in Pediatric surgery*, Vol1, No2 (May) pp115-24
37. Park-WH, Choi-SO, Lee-HJ, Kim-SP, Zeon-SK, Lee-SL,1997. A new diagnostic approach to biliary atresia with emphasis on the ultrasonographic triangular cord sign: Comparison of ultrasonography, hepatobiliary scintigraphy, and liver needle biopsy in the evaluation of infantile cholestasis. *J of Pediatr Surg*, Vol 32, No 11, 1555-1559
38. Park-WH, Kim-SP, Park-KK, Choi-SO, Lee-HJ, Kwon-KY,1996. Electron microscopic study of the liver with biliary atresia and neonatal hepatitis, *J of pediatric surgery*, Vol 31, No 3(March) 367-374
39. Petersen-C, Biermanns-D, Kuske-M, Schäkel-K, Meyer-Junghänel-L, Mildenerger-H, 1997. New aspects in a murine model for extrahepatic biliary atresia. *J of Pediatr Surg*, Vol 32, No 8,1190-1195
40. Petersen-C, Grasshoff-S, Luciano-L,1998. Diverse morphology of biliary atresia in an animal model. *J of hepatology*, 28, p: 603-607
41. Petersen-C, Kuske-M, Bruns-E, Biermanns-D, Wussow-Pv, Mildenerger-H,1998. Progress in developing animal models for biliary atresia. *Eur J Pediatr Surg* 8, 137-141
42. Petersen-M, Drews-U, Schweizer-P; 2001, Induction of bile ducts in embryonic liver by mesenchyme: a new perspective for treatment of biliary atresia? *Eur J Pediatr Surg* 2001 Dec; 11(6): 382-90
43. Raweily-EA, Gibson-AAM, Burt-AD,1990. Abnormalities of intrahepatic bile ducts in extrahepatic biliary atresia. *Histopathology* 17, 521-527
44. Sasaki-H, Nio-M, Iwami-D, Funaki-N, Ohi-R, Sasano-H,2001. Cytokeratin subtypes in biliary atresia: Immunohistochemical study, *Path Int* Vol51No7, p511-517

45. Schier-F und Schier-C, 1988, Ätiologie und Pathogenese der Extrahepatischen Gallengangsatresie, Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde, Bd.57,37-55.
46. Schoen-BT, Lee-H, Sullivan-K, Ricketts-RR, 2001. The Kasai Portoenterostomy: When is it too late?, J of pediatr surg, Vol36, No 1, 97-99
47. Schweizer-M, 1999; Prospektive klinische und histologische Studie zur Pathogenese, Therapie und Prognose der Extrahepatischen Gallengangsatresie, Inauguraldissertation, Universität Tübingen
48. Schweizer-M, Schweizer-P, Knupfer-R, Dietz-K, 1992. Die extrahepatische Gallengangsatresie, Vergleich zwischen operativer und nicht-operativer Therapie. Monatsschr Kinderheilkd 140: 422-425
49. Schweizer-P, 1990; Extrahepatic biliary atresia- an analytic assessment of prognostic factors. Contribution to a rational therapeutic approach. Zeitschrift für Kinderchirurgie, 45: 365-370
50. Schweizer-P, Kerremans-J; 1988; Discordant findings in extrahepatic bile duct atresia in 6 sets of twins. Z-Kinderchir. April; 43(2):72-5
51. Schweizer-P, Kirschner-HJ, Schittenhelm-C, 1999. Anatomy of the porta hepatis (PH) as rational basis for the hepatoportoenterostomy (HPE). Eur J Pediatr Surg 9, 13-18
52. Schweizer-P, Lünzmann-K, 1998. Extrahepatic bile duct atresia: How efficient is the Hepatoportoenterostomy? Eur J Pediatr Surg 8, 150-154
53. Schweizer-P, 1974, Modell einer Extrahepatischen Gallengangsatresie, Z. Kinderchir. 15, 1974, 90
54. Schweizer-P, Müller-G 1984: Gallengangsatresie: Cholestase-syndrome im Neugeborenen- und Säuglingsalter. Hippokrates, Stuttgart
55. Schweizer-P, Schweizer-M, Schellinger-K, Kirschner-HJ, Schittenhelm-C, 2000. Prognosis of extrahepatic bile-duct atresia after hepatoportoenterostomy. Pediatr Surg Int, 16: 351- 355
56. Schweizer-P, 1986; Treatment of extrahepatic bile duct atresia: results and long-term prognosis after hepatic portoenterostomy; Pediatr Surg Int 1986; 1: 30- 36
57. Senyüz-OF, Yesildag-E, Emir-H, Tekant-G, Bozkurt-P, Sarimurat-N, Söylet-Y, 2001; "Diagnostic laparoscopy in prolonged jaundice"; J Pediatr Surg, Vol 36, No 3, 463-465
58. Shirahase-I, Ooshima-A, Tanaka-K, Inamoto-T, Yamamoto-E, Ozawa-K, Yamabe-H, 1995. The slow progression of hepatic fibrosis in intrahepatic cholestasis as compared with extrahepatic biliary atresia. Eur J Pediatr Surg 5, 77-81

59. Shirahase-I, Ooshima-A, Tanaka-K, Ozawa-K, Yamabe-H, Yamamoto-T, 1993. Increased deposition and serum level of type IV collagen in patients with extrahepatic biliary atresia. *J of Pediatr Surg*, Vol 28, No 6, 847-850
60. Shirahase-I, Ooshima-A, Tanaka-K, Yamabe-H, Inomata-Y, Ozawa-K, 1994. Immunohistochemical Demonstration of collagen Types III and IV and Myofibroblasts in the liver of patients with biliary atresia. *J of Pediatr Surg*, Vol 29, No 5 (May) 639-644
61. Siewert-JR, 2000, *Chirurgie*, 7. Aufl, Springer-Verlag
62. Silveira-TR, Salzano-FM, Howard-ER, Mowat-AP, 1991, Congenital structural abnormalities in biliary atresia: Evidence for etiopathogenic heterogeneity and therapeutic implications, *Acta Pediatr Scand* 80: 1192- 1199
63. Silveira-TR, Salzano-FM, Donaldson-PT, Mieli-Vergani-G, Howard-ER, Mowat-AP, 1993. Association between HLA and Extrahepatic Biliary atresia. *J of Pediatr Gastroenterol Nutr*, Vol 16, No2, 114-117
64. Strickland-AD, Shannon-K, Coln-CD, 1985, Biliary atresia in two sets of twins, *J Pediatr* 107: 418-20
65. Tan-CEL, Davenport-M, Driver-M, Howard-ER, 1994. Does the morphology of the extrahepatic biliary remnants in biliary atresia influence survival ? A review of 205 cases. *J of Pediatr Surg*, Vol 29, No 11, 1459-1464
66. Tan-CEL, Driver-M, Howard-ER, Moscoso-GJ, 1994. Extrahepatic biliary atresia: a first-trimester event? Clues from light microscopy and immunohistochemistry. *J of Pediatr Surg*, Vol 29, No6, 808-814
67. Tan-CE, Vijayan-V, 2001; New clues for developing human biliary system at the porta hepatis. *J-Hepatobiliary-Pancreat-Surg*. 2001; 8(4):295-302
68. Tarr-PI, Haas-JE, Christie-DL ; 1996. Biliary atresia, cytomegalovirus, and age of referral. *Pediatrics* 1996; 97: 828-831
69. Toyosaka-A, Okamoto-T, Nose-K, Tomimoto-Y, 1993. Outcome of 21 patients with biliary atresia living more than 10 years. *J of Pediatr Surg*, Vol 28, No 11, 1498-1501
70. Toyosaka-A, Okamoto-E, Okasora-T, Nose-K, Tomimoto-Y, Seki-Y, 1994. Extensive dissection at the porta hepatis for biliary atresia. *J of Pediatr Surg*, Vol 29, No7, 896-899
71. Tracy-TF, Fox-J, Fox-ES, 1996. Molecular and cellular control points in pediatric liver injury and repair. *Semin in Pediatr surg*, Vol 5, No 3 (August) 175- 181
72. Tyler-KL, Sokol-RJ, Oberhaus-SM, Le-M, Karrer-FM, Narkewicz-MR, Tyson-RW, Murphy-JR, Low-R, Brown-WR, 1998; "Detection of Reovirus RNA in hepatobiliary tissues from patients with extrahepatic biliary atresia and choledochal cysts"; *Hepatology*, Vol 27, No 6, 1475-1482
73. Vijayan-V, Tan-CE, 2000. Computer-generated three-dimensional morphology of the hepatic hilar bile ducts in biliary atresia. *J of Pediatr Surg*, Vol 35, No 8, 1230-1235

74. Vijayan-V, Tan-CE, 1999; Development of the human intrahepatic biliary system. Ann-Acad-Med-Singapore, Jan, 28(1):105-8
75. Yoon-PW, Bresee-JS, Olney-RS, James-LM, Khoury-MJ,1997; Epidemiology of Biliary Atresia: A population-based study; Pediatrics Vol 99 No.3



Leberpforte bei EHGA; HOPA 20:1

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. P. Schweizer für die Vergabe des Themas und die ausgezeichnete Betreuung und Beratung während der Durchführung und Erstellung der Arbeit sowie die stetige Unterstützung.

Frau Dr. M. Petersen danke ich für die Unterstützung während der Erstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. U. Drews danke ich für die Beratung sowie die Bereitstellung seines Labors.

Frau Drews danke ich für die Einweisung und Unterstützung bei der Laborarbeit.

Herrn Wiehr und Herrn Schramm aus dem Fotolabor des Universitätsklinikums Tübingen danke ich für die sehr gute Betreuung bei der Herstellung und Bearbeitung der Abbildungen.

Frau Dr. Pietsch-Breitfeld aus dem Institut für Medizinische Informationsverarbeitung der Universität Tübingen danke ich für die Beratung bei der statistischen Auswertung.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Cornelia Bachmann
Geburtstag 26.06.1977
Geburtsort Tübingen
Eltern PD Dr. med. Friedrich F. Bachmann,
Facharzt für Gynäkologie und Geburtshilfe
Antonie Bachmann, Philologin

Schulausbildung

1983-1987 Grundschule im Aischbach, Tübingen
1987-1996 Uhlandgymnasium Tübingen
1996 Allgemeine Hochschulreife

Berufsausbildung

seit 10/1996 Studium der Medizin an der Eberhard- Karls- Universität Tübingen
08/1998 Ärztliche Vorprüfung
08/1999 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
99-2001 Famulaturen in Pathologie, Gynäkologie, Anästhesie und Chirurgie am
Universitätsklinikum Tübingen sowie Chirurgie an der Charite Berlin
08/2001 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/01-08/02 Praktisches Jahr
Innere Medizin: Universitätsklinik Tübingen
Chirurgie: Allgemein-/ Viszeral- und Unfallchirurgie am
Universitätsspital Zürich, Schweiz
Gynäkologie: Universitätsklinik Tübingen
11/2002 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
seit 1/2003 Ärztin im Praktikum an der Universitätsfrauenklinik Tübingen

Praktisches Jahr

10/01-02/02 Innere Medizin: Universitätsklinik Tübingen
02/02-05/02 Chirurgie: Allgemein-/ Viszeral- und Unfallchirurgie am
Universitätsspital Zürich, Schweiz
06/02-08/02 Gynäkologie: Universitätsklinik Tübingen

Sprachen

Latein, Englisch, Griechisch

Tübingen, März 2004