

Aus der Chirurgischen Klinik Campus Mitte/ Campus Virchow Klinikum der  
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Messung der Leberfunktion nach großen abdominalchirurgischen  
Eingriffen mittels Maximal Liver Function Capacity Test (LiMAx-  
Test) in Korrelation mit dem Indocyaningrün Test (ICG-Test) und  
inflammationsspezifischen Zytokinen**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Julia Liebich  
aus Berlin

Datum der Promotion: 21.06.2020

## **Vorwort**

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

Kaffarnik M, Stoeger G, Liebich J, Grieser C, Pratschke J, Stockmann M. Liver Function, Quantified by LiMAx Test, After Major Abdominal Surgery. Comparison Between Open and Laparoscopic Approach. *World J Surg.* 2018;42(2):557-66.

# Inhaltsverzeichnis

I	Abbildungsverzeichnis .....	5
II	Tabellenverzeichnis .....	6
III	Abkürzungsverzeichnis.....	7
IV	Zusammenfassung.....	8
V	Abstract.....	10
1.	Einleitung.....	12
2.	Methoden.....	15
2.1	Studiendesign.....	15
2.1.1	Patientenkollektiv .....	15
2.1.2	Einschlusskriterien .....	15
2.1.3	Ausschlusskriterien .....	15
2.1.4	Abbruchkriterien .....	16
2.1.5	Studienablauf .....	16
2.2	LiMax-Test .....	17
2.3	Indocyaningrün-Test.....	19
2.4	Zytokinbestimmung mittels ELISA.....	20
2.4.1	Allgemeine ELISA-Funktionsweise .....	21
2.4.2	TNF $\alpha$ High Sensitive ELISA .....	22
2.4.3	IL-10 ELISA.....	24
2.4.4	IL-8 Ultrasensitive ELISA .....	24
2.5	Statistische Auswertung .....	25
3.	Ergebnisse.....	28
3.1	Patientencharakteristika .....	28
3.2	Verlaufparameter .....	30
3.2.1	Dynamische Leberfunktionstests .....	30

3.2.2 Statische Leberfunktionsparameter.....	31
3.2.3 Klassische Entzündungsparameter.....	33
3.2.4 Zytokine .....	34
3.3 Korrelation von Inflammation und Leberfunktion .....	36
3.4 Gruppenanalysen .....	39
3.4.1 Patientencharakteristika in den Gruppen kein SIRS vs. SIRS .....	39
3.4.2 SIRS und dynamische Leberfunktion .....	40
3.4.3 SIRS und statische Leberfunktion .....	42
3.4.4 SIRS und Inflammation .....	43
4. Diskussion .....	48
4.1 Dynamische und statische Leberfunktion.....	48
4.2 Entzündungsparameter .....	52
4.2 Zusammenhang zwischen LiMAX und Höhe der Zytokinspiegel .....	56
4.3 Leberfunktion und SIRS .....	57
4.4 Limitationen .....	60
5. Schlussfolgerungen .....	61
6. Literaturverzeichnis .....	62
Eidesstattliche Versicherung .....	68
Lebenslauf.....	70
Publikationsliste.....	71
Danksagung .....	72

## I Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schema des LiMAx-Tests .....	19
Abb. 2: Injektions-Setup für den ICG-Test.....	20
Abb. 3: Allgemeine Funktionsweise eines Sandwich-ELISA .....	22
Abb. 4: Funktionsweise des Quantikine High Sensitive ELISA.....	23
Abb. 5: Funktionsweise des Ultrasensitive ELISA .....	25
Abb. 6: Verlauf der dynamischen Leberfunktionstests.....	31
Abb. 7: Verlauf der statischen Leberfunktionsparameter .....	33
Abb. 8: Verlauf der klassischen Entzündungsparameter .....	34
Abb. 9: Verlauf der Zytokine .....	36
Abb. 10: Streudiagramme der Korrelationsanalyse nach Spearman .....	38
Abb. 11: Verlauf der dynamischen Leberfunktionsparameter der Gruppen A und B .....	41
Abb. 12: Verlauf der statischen Leberparameter der Gruppen A und B .....	43
Abb. 13: Verlauf der klassischen Entzündungsparameter der Gruppen A und B .....	44
Abb. 14: Verlauf der Zytokine der Gruppen A und B .....	47

## II Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Studienablauf .....	16
Tabelle 2: Kriterien für eine systemische inflammatorische Reaktion .....	26
Tabelle 3: Übersicht präoperativer Patientencharakteristika .....	29
Tabelle 4: Zusammenhang zwischen LiMAx und IL-6-Konzentration .....	37
Tabelle 5: Überblick Patientencharakteristika ohne und mit SIRS .....	40

### III Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
CARS	Compensatory anti-inflammatory Response Syndrome
CRP	C-Reaktives-Protein
HRP	Horseradish Peroxidase
ICG-PDR	Indocyaningrün-Plasmadilutionsrate
ICU	Intensive Care Unit (Intensivstation)
IL-1 $\beta$ /6/8/10	Interleukin 1 beta/6/8/10
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartile Range/Interquartilsabstand
LiMAX	Maximal Liver Function Capacity
LOS	Length of Stay (Aufenthaltsdauer)
MODS	Multi Organ Dysfunction Syndrome/ Multiorganversagen
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
OD	Optical density/optische Extinktion
POD	postoperative day/postoperativer Tag
präop	präoperativ
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
Well/Well-Platte	Platte mit Vertiefungen

## IV Zusammenfassung

**Einleitung:** Große abdominale oder thorakoabdominale Operationen können zu einer systemisch inflammatorischen Reaktion (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) führen. Die mit dieser Reaktion einhergehende überschießende Immunantwort kann eine postoperative Organdysfunktion induzieren. Ziel dieser Pilotstudie war es, die Leberfunktion nach abdominalen bzw. thorakoabdominalen Operationen mittels des innovativen dynamischen Maximum Liver Function Capacity Test (LiMAX-Test) quantitativ zu untersuchen und mit etablierten Parametern der Leberfunktion (Indocyaningrün-Plasmadilutionsrate (ICG-PDR) und Laborparametern) zu vergleichen. Des Weiteren sollte der Einfluss zentraler pro- und antiinflammatorischer Zytokine, welche im Rahmen des postoperativen SIRS freigesetzt werden, auf die Leberfunktion untersucht werden.

**Methodik:** Es wurden 25 Patienten, die sich einer Ösophagusresektion oder einer transhiatal erweiterten Magenresektion unterzogen, in die Studie eingeschlossen. Die Patienten wurden im Zeitraum von Februar 2014 bis März 2016 aus der Chirurgischen Klinik der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum rekrutiert. Präoperativ und an den postoperativen Tagen (POD) 1, 3, 5 und 10 erfolgten die dynamischen Leberfunktionstests (LiMAX- und ICG-Test) sowie die Bestimmung statischer Laborparameter. Aus den gesammelten Blutproben wurden später die inflammationsspezifischen Zytokine mittels ELISA-Verfahren bestimmt. Zur Evaluation des Einflusses eines postoperativen SIRS auf die Leberfunktion wurde das Kollektiv in Gruppe A (kein SIRS) und Gruppe B (SIRS) eingeteilt.

**Ergebnisse:** Bei der Mehrheit der Patienten (64%) zeigte sich ein signifikanter Abfall der LiMAX-Werte vom präoperativen Ausgangsniveau zum 1. POD, gefolgt von einem signifikanten Wiederanstieg an POD 3 und 5. Die ICG-PDR blieb im gesamten Beobachtungszeitraum normwertig. Bei den Entzündungsparametern zeigten nur das IL-6, das CRP und die Leukozytenzahl einen signifikanten Anstieg oberhalb des Referenzbereiches am 1. POD. Die weiteren Zytokine (IL-8, TNF $\alpha$ , IL-10) blieben im gesamten Verlauf auf erhöhtem bzw. normwertigem Niveau ohne stärkere Dynamik. Bei der Korrelationsanalyse nach Spearman zwischen den LiMAX- und den IL-6-Werten ergab sich eine sehr geringe gegenläufige Beziehung am 1., 3. und 5. POD. Die Ergebnisse der Gruppenvergleiche lieferten keinen Hinweis darauf, dass im Rahmen eines definitionsgemäßen SIRS die Leberfunktion stärker beeinträchtigt wird.



**Schlussfolgerungen:** Mit dem LiMAx-Test konnte erstmalig eine bisher nicht beschriebene quantitative Leberdysfunktion nach großen abdominalchirurgischen Operationen gezeigt werden. Im Vergleich mit der ICG-PDR und klassischen statischen Laborparametern war der LiMAx-Test hinsichtlich der Sensitivität überlegen. Die Dynamik zentraler pro- und antiinflammatorischer Zytokine hatte in dem untersuchten Patientenkollektiv keinen Einfluss auf die Leberfunktion. Die Gruppenvergleiche zeigten, dass auch die Erfüllung der SIRS Kriterien keinen Einfluss auf die Schwere der passageren Leberdysfunktion sowie die Höhe der Zytokinspiegel hatte.

## V Abstract

**Background:** Major abdominal or thoracoabdominal surgery may lead to a systemic inflammatory response syndrome (SIRS). SIRS comes with an exaggerated response of the immune system and may induce postoperative organ failure. This study intends to investigate the liver function after major abdominal or thoracoabdominal surgery using the innovative dynamic Maximum Liver Function Capacity Test (LiMAX-Test) as well as to compare the LiMAX-Test results with other established liver function parameters (Indocyanine green plasma disappearance rate (ICG-PDR) and laboratory parameters). Furthermore, the study examines the influence of central pro- and anti-inflammatory cytokines on the liver function.

**Methods:** We prospectively investigated 25 patients scheduled for upper abdominal surgery. The patients were recruited in the period February 2014 to March 2016 from the Department of Surgery Charité, Campus Virchow. The dynamic liver function tests and determination of static laboratory parameters were performed preoperatively and on the postoperative days (POD) 1, 3, 5 and 10. The ELISA technique was used to determine the inflammatory cytokines within the collected blood samples. In order to evaluate the influence of postoperative SIRS on the liver function, the cohort was divided into group A (Non-SIRS) and group B (SIRS).

**Results:** The majority of the patients (64%) showed a significant deterioration of LiMAX-values from preoperative baseline to postoperative day 1, followed by significant increase on POD 3 and 5. The values for ICG-PDR remained within normal range during the whole examination period. Out of the inflammatory parameters, only IL-6, CRP and white blood count showed a significant increase above the normal range on POD 1. The other cytokines remained constantly on increased or normal levels during the whole period. The correlation analysis according to Spearman of LiMAX- and IL-6-values revealed a very low antidromic relation on POD 1, 3 and 5. The results of the cohort comparison delivered no indication that the liver function was heavily impaired by SIRS.

**Conclusion:** Using the LiMAX-Test, a previously unreported quantitative liver dysfunction after major abdominal surgery was described for the first time. The LiMAX-Test and its sensitivity were superior compared to the ICG-PDR and other standard liver parameters. The rise of central pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines did not affect the liver function. The two groups SIRS and Non-SIRS showed no differences

in LiMAx-values, ICG-PDR, static laboratory parameters and cytokine levels. The comparison of the two groups showed, that fulfilling the SIRS criteria has no influence on the severity of temporary liver dysfunction or raise of cytokine levels.

## 1. Einleitung

Patienten können infolge großer thorax- bzw. abdominalchirurgischer Eingriffe eine systemische Inflammationsreaktion (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) entwickeln. Der durch die Operation bedingte Gewebeschaden kann neben einer endokrin-metabolischen Reaktion zu einer erhöhten Aktivität verschiedener Immunzellen führen, welche anschließend die Produktion weiterer inflammatorischer Mediatoren und Zytokine initiieren. Frühere Untersuchungen konnten belegen, dass diese Immunantwort einen wichtigen Einfluss hinsichtlich der Entwicklung einer postoperativen Organdysfunktion hat (1-6). Ein postoperatives SIRS ist assoziiert mit erhöhter Morbidität und Mortalität (2). Die Operationsdauer und das Ausmaß des chirurgischen Eingriffs korrelieren mit der Stärke der Aktivierung der inflammatorischen Reaktion und somit mit der Schwere des SIRS (6, 7).

Das SIRS ist die immunologische Antwort des Organismus auf ein Trauma unterschiedlicher Genese, welches ohne eine ursächliche Infektion auftritt (1). Diese inflammatorische Reaktion ist essentiell für Reparaturvorgänge in den Geweben und fördert primär den Heilungsprozess. Jedoch kommt dieser positive Einfluss nur zum Tragen, wenn ein Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Mediatoren herrscht. Bei größeren Gewebeschäden, wie sie im Rahmen einer abdominalchirurgischen Operation auftreten können, kann es initial zu einer überschießenden Freisetzung proinflammatorischer Zytokine kommen. In der Folge kann dies zu einer hämodynamischen Instabilität und metabolischen Veränderungen führen mit dem Ergebnis einer Endorganschädigung durch Minderdurchblutung (8-10).

Für die Synthese proinflammatorischer Zytokine sind initial Makrophagen und Monozyten aus dem geschädigten Gewebe verantwortlich. Sie produzieren u. a. Interleukin 1 beta (IL-1 $\beta$ ) und den Tumornekrosefaktor alpha (TNF $\alpha$ ), welche primär für die nicht-hepatische Akute-Phase-Reaktion verantwortlich sind (11). Diese beiden Mediatoren stimulieren wiederum die Synthese weiterer Zytokine, u. a. Interleukin 6 (IL-6) und Interleukin 8 (IL-8). Die Leber selbst spielt bei der Unterhaltung der inflammatorischen Reaktion eine zentrale Rolle. Alle Zellen der Leber sind in der Lage, Entzündungsmediatoren zu produzieren und stimulieren durch autokrine Mechanismen sich selbst oder durch parakrine Mechanismen umgebende Zellen zur weiteren Zytokinproduktion. Als Hauptquelle der Synthese von inflammatorischen Mediatoren werden die Kupferzellen gesehen (10). Verschiedene experimentelle Studien konnten

zeigen, dass die Leber selbst im Rahmen dieser überschießenden Immunreaktion in ihrer Funktion beeinträchtigt werden kann. So führt beispielsweise die vermehrte IL-1 $\beta$ - und TNF $\alpha$ - induzierte Neutrophilenadhäsion zu einer Freisetzung von Sauerstoffradikalen, welche einen Leberzellschaden zur Folge haben kann (12). Neben IL-1 $\beta$  und TNF $\alpha$  gilt das IL-6 als eines der Schlüsselzytokine im Rahmen postoperativer inflammatorischer Reaktionen. IL-6 gilt als zuverlässiger Biomarker zur Identifikation eines postoperativen SIRS (2). Die Höhe der IL-6-Plasmakonzentrationen steht im Zusammenhang mit der Schwere des Traumas und der Dauer der OP und gilt als Risikofaktor für postoperative Komplikationen (8, 13, 14). IL-6 ist der Hauptmediator der hepatischen Akute-Phase-Proteinsynthese (CRP, Procalcitonin und C3-Komplement-Faktor). Andererseits hat IL-6 auch antiinflammatorische Funktionen. So stimuliert es die Expression von löslichen TNF $\alpha$ -Rezeptoren und IL1-Rezeptorantagonisten zur Abschwächung der proinflammatorischen Mediatoren. Zusätzlich induziert es die Synthese potenter antiinflammatorisch wirkender Zytokine, wie beispielsweise dem Interleukin 10 (IL-10) (8). Somit wird die initial proinflammatorische Immunreaktion durch eine kompensatorisch antiinflammatorische Antwort schnell ausgeglichen.

Eine Dysbalance in eine Richtung, entweder hyperinflammatorisch oder immunsuppressiv, kann für den Patienten das Risiko einer Organdysfunktion mit erhöhter Morbidität und Mortalität bergen (15).

Die Auswirkungen eines SIRS auf die Leberfunktion sind bisher unzureichend im klinischen Rahmen evaluiert worden. In einigen Studien wurde untersucht, inwiefern sich die üblich verwendeten statischen Leberparameter wie Bilirubin, INR und Transaminasen nach einer Operation verändern. Im Zentrum dieser Untersuchungen stand jedoch nicht die postoperative Immunreaktion, sondern die Frage, welchen Einfluss das Operationsverfahren auf die Leber hatte (16, 17). Weiterhin besteht Uneinigkeit darüber, ob die klassischen Leberparameter sensitiv genug sind, um eine Leberdysfunktion zu detektieren, da sie im Wesentlichen nur den Zustand der Integrität der Hepatozyten, sowie ihrer Exkretions- bzw. Syntheseleistung widerspiegeln (18, 19). Auch wenn diese Parameter bezüglich diagnostischer und differentialdiagnostischer Überlegungen oft hilfreiche Erkenntnisse liefern, so ist ihre Aussagekraft in Bezug auf eine akute Leberfunktionseinschränkung nicht klar definiert (19, 20).

Infolgedessen wurden dynamische Leberfunktionstests entwickelt, welche die Kapazität der Leber messen, eine bestimmte Indikatorsubstanz aus dem Blutkreislauf zu extrahieren und anschließend biliär auszuscheiden bzw. zu metabolisieren.

Der Indocyaningrün-Test (ICG), ein etablierter dynamischer Leberfunktionstest, gibt mittels der ICG-PDR Auskunft über den aktiven Transport der Hepatozyten in die Gallenwege. Ein neuerer dynamischer Leberfunktionstest, der Maximum Liver Function Capacity Test (LiMAX-Test), liefert Informationen über die Leberfunktion auf der Basis des  $^{13}\text{C}$ -Methacetin Metabolismus. Die Umsetzung des  $^{13}\text{C}$ -Methacetins am Cytochrom P 450 CYP1A2 verhält sich hierbei proportional zur Leberfunktionskapazität (21).

Verschiedene Studien haben mit unterschiedlichen diagnostischen Mitteln eine Änderung der Leberfunktion nach Leberresektion oder Lebertransplantation untersucht (22, 23). Auch hinsichtlich der Leberfunktion im septischen Schock liegen Daten vor (24). Bezüglich der Fragestellung einer Änderung der Leberfunktion nach großen thorakoabdominalen Eingriffen ohne Resektionen der Leber oder im Bereich des Leberhilus liegen bisher keine Daten vor.

Das Ziel dieser Arbeit war, erstmalig die Leberfunktion nach abdominalen bzw. thorakoabdominalen Operationen mittels des LiMAX-Tests zu untersuchen. Der LiMAX-Test wurde mit der ICG-PDR und klassischen statischen Leberparametern verglichen. Des Weiteren sollte der Einfluss des postoperativen SIRS auf die Leberfunktion untersucht werden. Dazu wurden verschiedene pro- und antiinflammatorische Zytokine bestimmt und IL-6 als zentrales inflammatorisches Zytokin mit dem LiMAX Test korreliert.

## **2. Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Die Studie wurde als klinisch-prospektive Beobachtungsstudie geplant. Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission der Charité genehmigt (EA1/030/14). Die Patienten wurden im Zeitraum von Februar 2014 bis März 2016 aus der Chirurgischen Klinik des Campus Virchow Klinikums Berlin rekrutiert.

Alle Patienten unterschrieben freiwillig eine Einverständniserklärung, nachdem sie zuvor ausführlich mündlich sowie schriftlich über den Ablauf, Nutzen und etwaige Risiken der Studie aufgeklärt wurden.

#### **2.1.1 Patientenkollektiv**

Es wurden 32 Patienten eingeschlossen, welche sich einer abdominothorakalen Ösophagusresektion mit Magenhochzug oder einer transhiatal erweiterten Gastrektomie unterzogen.

7 Patienten wurden im Verlauf ausgeschlossen, sodass am Ende ein Kollektiv von 25 Probanden zur Verfügung stand.

#### **2.1.2 Einschlusskriterien:**

- geplante transhiatal erweiterte Magenresektion oder abdominothorakale Ösophagusresektion
- Alter > 18 oder < 90 Jahre
- Patientenaufklärung und schriftliche Einwilligungserklärung

#### **2.1.3 Ausschlusskriterien**

- bekannte Allergie gegen Methacetin, Paracetamol, Indocyaningrün
- Alter < 18 oder > 90 Jahre
- Schwangerschaft, stillende Frauen
- fehlende Einwilligung
- vorbestehende Lebererkrankung (bspw. Zirrhose Child Pugh B-C)
- Faktoren, die die Fähigkeit des Patienten, während der Studie zu kooperieren, einschränken (z. B. mentale Dysfunktion oder Substanzmissbrauch)

### 2.1.4 Abbruchkriterien

- allergische Reaktion auf die verwendeten Substanzen
- postoperative Komplikationen, die Einfluss auf die Testergebnisse haben könnten
- Widerruf der Einwilligung

### 2.1.5 Studienablauf

Die Messung der dynamischen Leberfunktion mittels LiMAx- und ICG-Test sowie die Blutabnahmen für Laborparameter und Zytokinbestimmungen erfolgten präoperativ (präop/0) und an den postoperativen Tagen (POD) 1, 3, 5, und 10 (siehe Tabelle 1).

**Tabelle 1: Studienablauf**

	Präop/0	1. POD	3. POD	5. POD	10. POD
<b>Einschluss</b>	X				
<b>Labor*, Zytokine</b>	X	X	X	X	X
<b>LiMAx</b>	X	X	X	X	X
<b>ICG</b>	X	X	X	X	X

\* Labor: kleines Blutbild, AST, ALT, Bilirubin, INR, IL-6, CRP

Die Messungen an POD 5 und 10 wurden aus organisatorischen Gründen variabel durchgeführt: POD 4-6 und POD 9-11. Gründe hierfür waren die Verfügbarkeit der Messgeräte oder Überschneidung mit anderen Untersuchungen. Die Blutproben wurden aus peripher- oder zentralvenösen Zugängen entnommen.

Die laborchemische Analyse der Routineparameter sowie des Interleukin 6 wurde durch das Labor Berlin (Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH, Sylter Straße 2, 13353 Berlin) durchgeführt. Die vom Labor Berlin angegebenen Referenzwerte wurden in dieser Arbeit verwendet.

Es wurden im Einzelnen folgende Laborparameter bestimmt: kleines Blutbild (Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten, Hämoglobin), Gerinnungsparameter (INR), Leberparameter (Bilirubin gesamt, AST, ALT), Entzündungsparameter (CRP, IL-6). Weiterhin wurden klinische Parameter wie Blutdruck, Herzfrequenz und Körpertemperatur dokumentiert.



Zu den intraoperativ gesammelten Daten zählten: Operationsdauer, Anästhesiedauer, minimaler systolischer Blutdruck, minimale Hämoglobinkonzentration.

Folgende Daten wurden während des Studienzeitraums erhoben: Länge des Aufenthalts im Krankenhaus (Krankenhaus LOS), Länge des Aufenthalts auf der Intensivstation (ICU LOS).

Die erhobenen Patientendaten und Untersuchungsbefunde wurden schriftlich auf standardisierten Prüfbögen (Case Report Form, CRF) erfasst und anonymisiert sowie anschließend in eine SPSS Datenbank eingepflegt.

## **2.2 LiMAx-Test**

Der LiMAx-Test ist ein nicht-invasiver, dynamischer Leberfunktionstest, basierend auf den Grundlagen des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests.  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff ist ein natürlich vorkommendes, nicht-radioaktives und stabiles Isotop des  $^{12}\text{C}$ , welches physiologisch nur in sehr geringen Mengen im Körper vorkommt. Der Test macht sich die enzymatische Umwandlung einer mit  $^{13}\text{C}$ -angereicherten Testsubstanz ( $^{13}\text{C}$ -Methacetin; Humedics GmbH) durch das nur in den Hepatozyten ubiquitär vorkommende Cytochrom P 450 1A2 (CYP1A2) zunutze (21).

### Testablauf

Der LiMAx-Test erfolgte am liegenden Patienten nach mindestens dreistündiger enteraler Nahrungs- und Nikotinkarenz. Bei bestehender Infusionstherapie oder parenteraler Ernährung wurden keine Änderungen vorgenommen, um konstante Messbedingungen zu schaffen. Sauerstoffpflichtige Patienten erhielten weiterhin eine konstante Sauerstoffzufuhr über die Atemmaske.

Nach Eingabe der Patientendaten sowie Körpergröße, Körpergewicht, Alter und Geschlecht wurde über eine speziell für den Test hergestellte Atemmaske die Ausatemluft des Patienten in das angeschlossene nicht-dispersive Isotopen-selektive Infrarotspektroskop (NDIRS; FANCI2-db16, Fischer Analysen Instrumente, Leipzig) geleitet. Nach zehnminütiger Bestimmung des Ruheverhältnisses von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft (Baseline) durch Infrarot-Spektroskopie wurden dem Patienten 2mg/kg Körpergewicht  $^{13}\text{C}$ -Methacethinlösung intravenös als Bolus appliziert, gefolgt von 20ml physiologischer Kochsalzlösung (NaCl 0,9%). Das Nachspülen sollte eine vollständige und schnellstmögliche Verteilung des Substrates sicherstellen.

Die Metabolisierung des  $^{13}\text{C}$ -Methacetins erfolgt in den Hepatozyten durch CYP1A2-abhängige Demethylierung. Dabei entstehen Paracetamol und  $^{13}\text{CO}_2$ , welches in der Ausatemluft gemessen werden kann (Abb. 1).

Die Veränderung des Verhältnisses von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft wurde in definierten Zeitabständen für maximal 60 Minuten gemessen.

Das Maximum dieses Verhältnisses stellt den sog.  $\text{DOB}_{\text{max}}$  (delta over baseline) dar.

Der letztliche LiMAX-Wert kann anhand folgender Formel berechnet werden (21):

$$\text{LiMAX} = \frac{\text{DOB}_{\text{max}} \cdot R_{\text{PDB}} \cdot P \cdot M}{\text{BW}}$$

$R_{\text{PDB}}$  = Pee Dee belemnite limestone-Verhältnis ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0,011237$ )

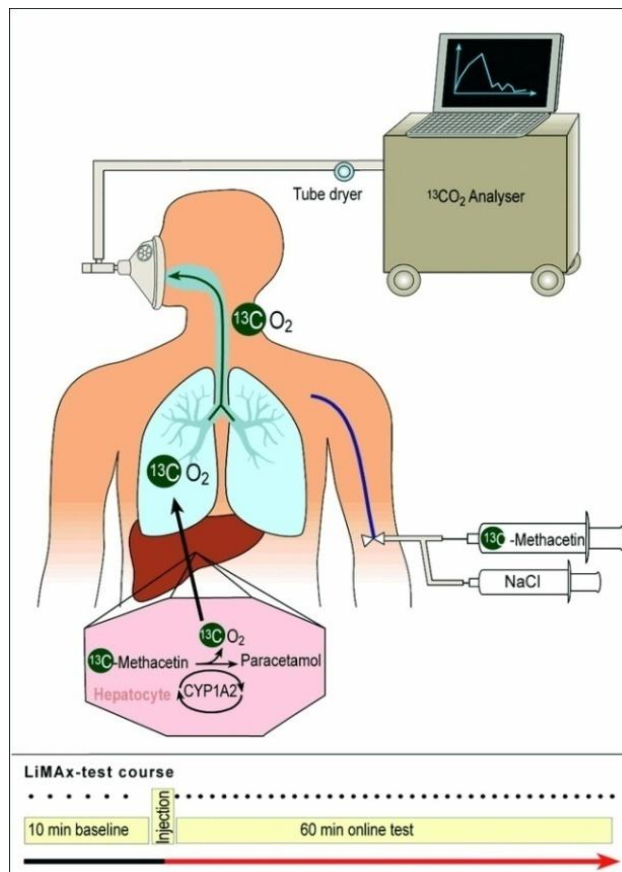
P =  $\text{CO}_2$ -Produktionsrate (300mmol/h Körperoberfläche in  $\text{m}^2$ )

M = Molekulargewicht von  $^{13}\text{C}$ -Methacethin

BW = Körpergewicht in kg

Der LiMAX-Wert gibt die aktuell maximal mögliche Umsatzrate am Cytochrom P450 CYP1A2 an und repräsentiert somit die zu diesem Zeitpunkt maximale Leberfunktionskapazität.

Das Resultat wird in  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  angegeben. Ein Wert  $> 315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  ist als Normbereich definiert (25). In den vorhergehenden Studien und in der Literatur sind für den LiMAX-Test keine Nebenwirkungen beobachtet bzw. beschrieben worden.



**Abb. 1: Schema des LiMAX-Tests**  
entnommen aus (21)

### 2.3 Indocyaningrün-Test

Der ICG-Test ist ein dynamischer Leberfunktionstest, der bereits seit den 1960er Jahren Anwendung findet. Indocyaningrün (ICG) ist eine nicht-toxische und gut wasserlösliche Substanz, welche sich nach intravenöser Injektion sofort und vollständig an Plasmaproteine bindet. In gebundener Form wird es zur Leber transportiert und dort selektiv durch einen Adenosintriphosphat (ATP)-unabhängigen Transporter in die Hepatozyten geschleust. Ohne weitere Umwandlung wird das ICG dann weiter über einen ATP-abhängigen Transporter unverändert in die Galle ausgeschieden (26).

Die ICG-Clearance oder die ICG-Plasmadilutionsrate (ICG-PDR) kann Informationen über die Leberfunktion liefern (27).

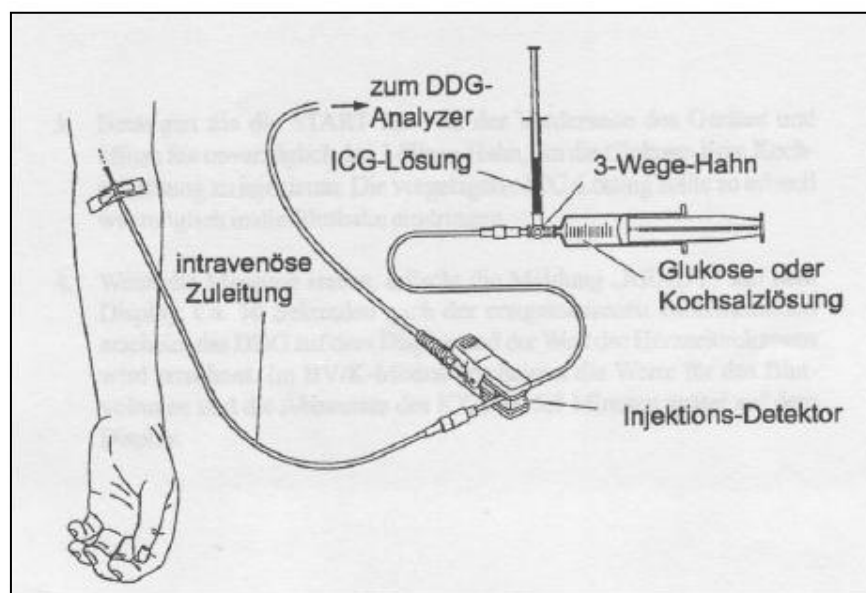
#### Testablauf

Der ICG-Test erfolgte am liegenden Patienten. Vor Beginn des Tests wurden der aktuelle Hb-Wert, Gewicht und Größe des Patienten sowie die ICG-Dosis in das Analysegerät eingetragen. Anschließend wurden dem Patienten 0,5mg/kg

Körpergewicht verdünnte Indocyaningrünlösung (ICG-Pulsion, Pulsion AG, München), gefolgt von 10ml Aqua dest. und 20ml 0,9% NaCl intravenös als Bolus appliziert. Ein Injektionssensor erfasste den genauen Injektionszeitpunkt. Über einen Fingerclip an der kontralateralen Hand wurde das im Blut vorhandene ICG nicht-invasiv für 15 Minuten kontinuierlich ermittelt (s. Abb. 2). Die ICG-PDR aus dem Blut wurde über eine Pulsdensitometrie (DDG-2001K, Dye Densitogram Analyzer, Nihon Kohden, Tokio, Japan) bestimmt und in %/min angegeben.

Dieses Verfahren erfasst die ICG-Konzentration, indem es die Veränderung der ICG-Absorption im arteriellen Blut bei 2 unterschiedlichen Wellenlängen misst. Diese liegt zum einen bei 805nm, welches das Absorptionsmaximum von ICG darstellt, und zum anderen bei 905nm, wo keine Absorption mehr gemessen werden sollte (28).

Eine normale ICG-PDR ist definiert zwischen 18 – 25 %/min (29).



**Abb. 2: Injektions-Setup für den ICG-Test**  
entnommen aus (30)

## 2.4 Zytokinbestimmung mittels ELISA

Die Bestimmung der Zytokine  $\text{TNF}\alpha$ , IL-8 und IL-10 erfolgte mittels eines antikörperbasierten Nachweisverfahrens, dem sogenannten ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Es wurden an den jeweiligen Messtagen Serum- und Plasmaproben (EDTA) entnommen. Diese wurden bei 1000 x g für 15 Minuten zentrifugiert, der Plasmaüberstand in Kryogefäße (CryoPure; Sarstedt) aliquotiert und

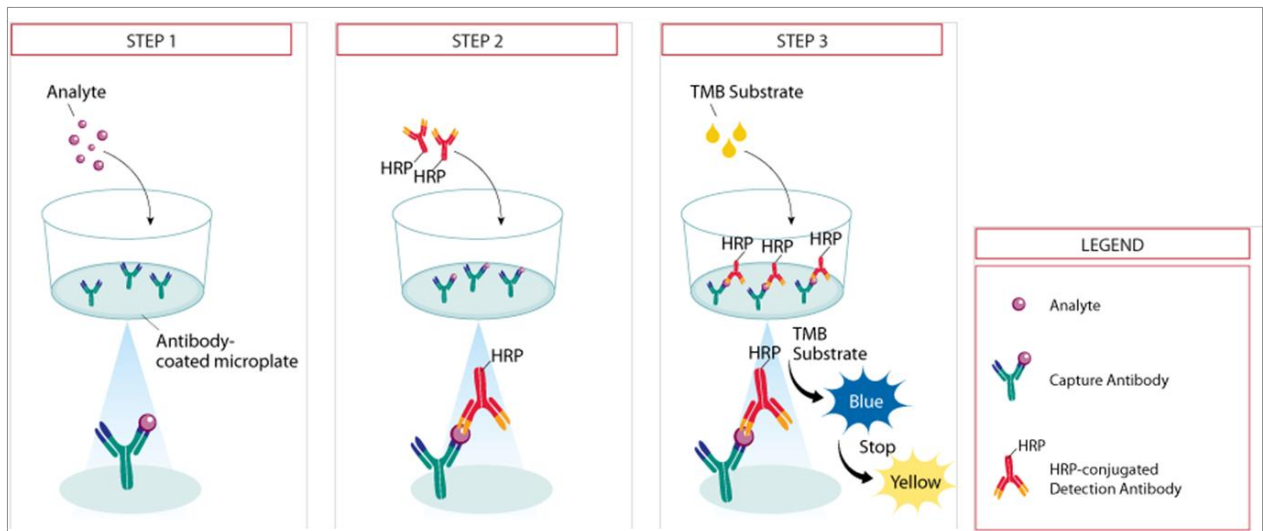
bei -80 °C eingefroren. Für die quantitative Bestimmung der Zytokine wurden kommerzielle ELISA Kits verwendet (TNF $\alpha$  und IL-10: Quantikine R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA; IL-8: Life Technologies Corporation, Frederick, USA). Alle Messzeitpunkte wurden zweifach bestimmt. Die angegebenen Zytokinkonzentrationen repräsentieren den Mittelwert aus den beiden Messergebnissen.

#### **2.4.1 Allgemeine ELISA-Funktionsweise**

Das ELISA Verfahren bezeichnet ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, welches auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert. Beim sogenannten Sandwich-ELISA werden 2 Antikörper verwendet, welche spezifisch an das zu bestimmende Antigen binden (s. Abb. 3). Der Erstantikörper ist an eine feste Phase, i. d. R. eine 96 Well-Mikrotitrierplatte, gebunden (sog. coat antibody). Auf die Well-Platte werden dann Proben, Standards und Kontrollen pipettiert. Das nachzuweisende Antigen bindet adsorptiv an den Erstantikörper.

Nach einer vorgegebenen Inkubationszeit erfolgt ein Waschvorgang mittels einer speziellen Waschlösung. Somit werden alle ungebundenen Substanzen aus den Wells entfernt. Im nächsten Schritt wird der Zweitantikörper zur Detektion (sog. detection antibody) auf die Platte gegeben. Dieser bindet an ein anderes Epitop des Antigens als der Erstantikörper. Zusätzlich hat der Zweitantikörper ein Enzym gebunden. Nach einer definierten Inkubationszeit entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Durch einen weiteren Waschvorgang werden ungebundene Detektionsantikörper entfernt. Anschließend wird ein zum Enzym passendes Substrat hinzugefügt. Die Umsetzung des Enzyms führt zu einem sichtbaren Farbumschlag. Nach Zugabe einer Stopp-Lösung, welche die Umsetzung des Enzyms beendet, wird die Platte mit einem Microplate Reader bei einer bestimmten Wellenlänge ausgelesen und die optische Extinktion (optical density, O. D.) photometrisch bestimmt. Die Intensität des Farbumschlages ist proportional zur Konzentration des Antigens.

Anhand einer Serie mit bekannten Antigenkonzentrationen (= Standardreihe) und deren gemessenen Signalen für die optische Extinktion wird eine Kalibrierungskurve angefertigt. Anhand dieser Kurve und den für die Proben ermittelten O. D.-Werten können im Anschluss quantitativ die Konzentrationen des nachzuweisenden Antigens bestimmt werden.



**Abb. 3: Allgemeine Funktionsweise eines Sandwich-ELISA**  
mit freundlicher Genehmigung von R&D Systems, eine Bio-Techne Marke (31)

Im Folgenden wird die Durchführung der Zytokinbestimmung im Einzelnen beschrieben, da für die 3 Zytokine unterschiedliche ELISA Kits verwendet wurden. Vor der Durchführung des ELISA wurden alle Proben und der Inhalt der Kits auf Raumtemperatur gebracht. Die verwendeten Reagenzien wurden nach den Vorgaben des Herstellers verarbeitet. Die vom Hersteller für die Standardreihen vorgegebenen Verdünnungen wurden ebenfalls sorgfältig eingehalten. Des Weiteren wurde die Reihenfolge, in welcher die Proben auf die Platten aufgetragen wurden, auf einem Plattenbelegungsplan festgehalten, sodass eine genaue Zuordnung der Probe zum jeweiligen Patienten und Messtag gewährleistet war.

### 2.4.2 TNF $\alpha$ High Sensitive ELISA

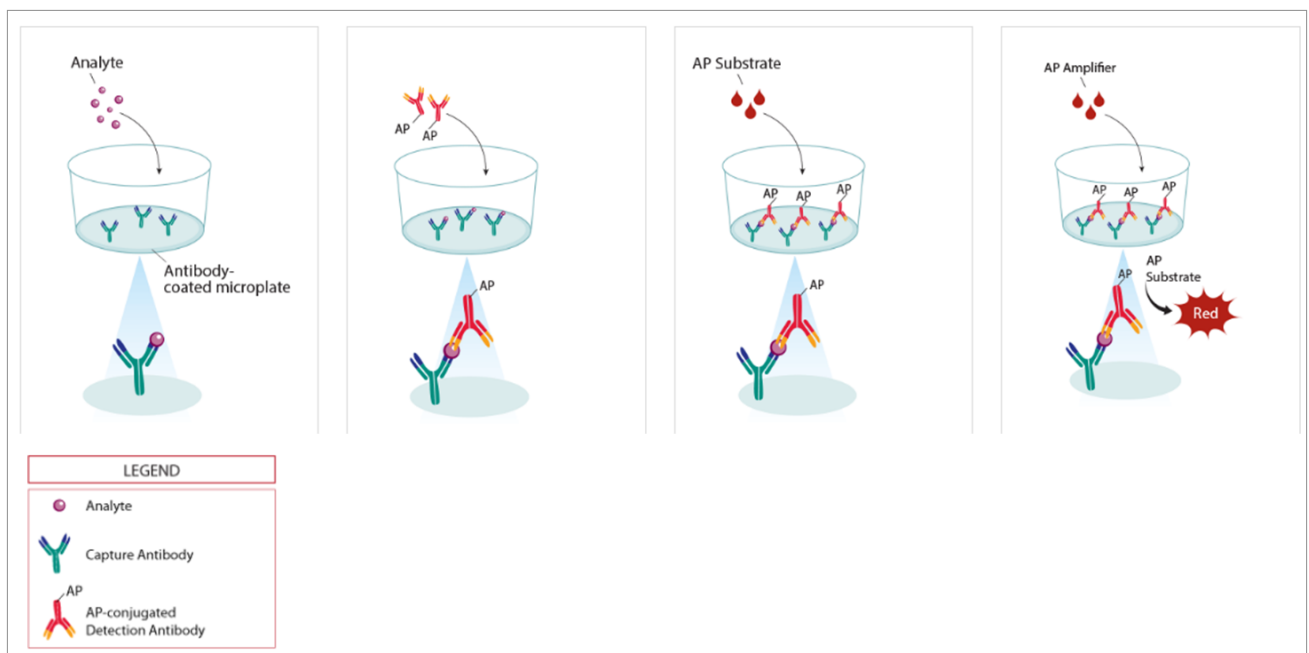
Der Detektionsrahmen des hier durchgeführten HS TNF $\alpha$  ELISA lag zwischen 0,5 und 32 pg/ml, mit einer Sensitivität von 0,191 pg/ml. Es wurde ein High sensitive ELISA gewählt, da hier besonders niedrige Konzentrationen messbar sind.

Auf die mit einem monoklonalem Antikörper, spezifisch für humanes TNF $\alpha$ , beschichteten Platten wurden die Standardreihen, Kontrollen, die kein TNF $\alpha$  enthielten, und die Plasmaproben jeweils in Duplikatur aufgetragen. Nach 3-stündiger Inkubation erfolgte der erste Waschvorgang. Hierzu wurde eine definierte Menge an Waschlösung in die Wells pipettiert und anschließend aspiriert. Dieser Vorgang wurde insgesamt sechsmal durchgeführt. Anschließend wurde ein enzymgebundener, polyklonaler

Antikörper, spezifisch für humanes TNF $\alpha$ , der Well-Platte hinzugefügt. Nach 2-stündiger Inkubation erfolgte erneut ein Waschvorgang. Danach wurde NADPH-Substrat-Lösung (Nicotinamidadenindinukleotidphosphat) beigefügt. Nach 1-stündiger Inkubation wurde ohne vorherigen Waschvorgang die sogenannte Amplifier-Lösung hinzugefügt. Diese enthielt das für das Enzym passende Substrat und führte zu einem Farbumschlag in Rottönen (s. Abb. 4). Nach 30 Minuten wurde die Farbreaktion durch eine Stopp-Lösung beendet und die Absorption bzw. die Signalstärke des Farbstoffes bei 492nm und 680nm ausgelesen.

Um optische Unregelmäßigkeiten bzw. Störstellen der Platten zu korrigieren wurde vom Hersteller empfohlen, die Messwerte bei Wellenlänge 680nm von denen der Wellenlänge 492nm zu subtrahieren. Anschließend wurde der Mittelwert aus den Doppelbestimmungen berechnet und der Mittelwert der Kontrollprobe abgezogen.

Aus den ermittelten Werten für die Standardreihe konnte eine Standardkurve konstruiert werden, anhand derer die Konzentrationen für die Proben abgelesen wurden. Der vom Hersteller angegebene testspezifische Referenzwert für TNF $\alpha$  lag bei 1,04 pg/ml.



**Abb. 4: Funktionsweise des Quantikine High Sensitive ELISA**  
mit freundlicher Genehmigung von R&D Systems, eine Bio-Techne Marke (32)

### **2.4.3 IL-10 ELISA**

Der Detektionsrahmen des IL-10 ELISA Kits lag zwischen 7,8 und 500 pg/ml mit einer Sensitivität von 3,9 pg/ml.

Den Platten, welche mit monoklonalen Antikörpern für humanes IL-10 beschichtet waren, wurden die Standardreihen, Kontrollen und Plasmaproben jeweils in Duplikatur hinzugefügt. Nach 2-stündiger Inkubation bei Raumtemperatur, erfolgte ein viermaliger Waschvorgang. Im Anschluss wurde das IL-10-Konjugat in die Wells pipettiert und für 2 Stunden inkubiert. Das Konjugat enthielt den für IL-10 spezifischen, enzymgebundenen monoklonalen Antikörper. Danach erfolgte ein weiterer Waschvorgang und anschließend wurde die Tetramethylbenzidin-Substratlösung aufgetragen. Diese führte nach einer 30-minütigen lichtgeschützten Inkubation zu einer Blaufärbung in den Wells. Nachfolgend wurde die Stopplösung hinzugefügt, welche wiederum zu einem Farbumschlag in Gelbtönen führte. Innerhalb von 30 Minuten erfolgte die Auslesung der Absorption bei einer Wellenlänge von 450nm und 550nm. Zur Korrektur möglicher optischer Unregelmäßigkeiten der Platte erfolgte abermals die Subtraktion der höheren Wellenlänge von der niedrigeren.

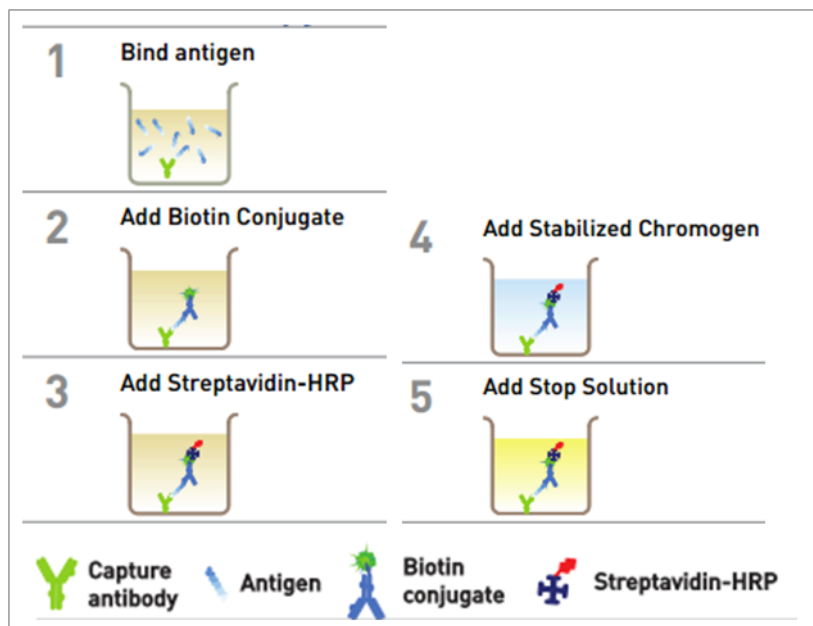
Anhand der konstruierten Standardkurve konnten dann die Konzentrationen der Proben berechnet werden. Der vom Hersteller angegebene testspezifische Referenzwert für IL-10 lag bei < 7,8 pg/ml.

### **2.4.4 IL-8 Ultrasensitive ELISA**

Das IL-8 Ultrasensitiv ELISA Kit hatte einen Detektionsrahmen von 0,39 - 25 pg/ml bei einer Sensitivität von < 0,1 pg/ml. Den mit monoklonalen Antikörpern für IL-8 beschichteten Platten wurden die Standardreihen, Kontrollen und Serumproben jeweils in Duplikatur hinzugefügt und für zwei Stunden inkubiert. Nach einem viermaligen Waschvorgang wurde den Wells der Detektorantikörper für humanes IL-8, welcher mit Biotin gekoppelt war (Biotin-labeld anti IL-8), hinzugefügt und für eine Stunde inkubiert. Nach einem wiederholten Waschvorgang wurde Streptavidin-HRP (Horseradish Peroxidase) beigefügt und für eine halbe Stunde inkubiert. Anschließend wurde ein drittes Mal gewaschen und danach die Substratlösung mit Tetramethylbenzidin aufgetragen. Dieses Gemisch inkubierte für 30 Minuten im Dunkeln, wobei ein Farbumschlag in Blautönen erfolgte. Nachdem die Stopplösung aufgetragen wurde



veränderte sich die Farbgebung von Blau zu Gelb (s. Abb. 5). Im Anschluss wurde die Absorption bei einer Wellenlänge von 450nm ausgelesen. Eine Korrektur durch Subtraktion einer zweiten Wellenlänge war vom Hersteller nicht vorgesehen. Anhand der konstruierten Standardkurve konnten dann die Konzentrationen der Proben berechnet werden. Der vom Hersteller angegebene testspezifische Referenzwert für IL-8 lag bei 4,5 pg/ml.



**Abb. 5: Funktionsweise des Ultrasensitive ELISA**  
mit freundlicher Genehmigung von Thermofisher Scientific Inc. (33)

## 2.5 Statistische Auswertung

Die Daten in dieser Arbeit wurden, wenn nicht anders erwähnt, als Median mit den Grenzen des Interquartilbereichs (IQR: 25. und 75. Perzentile) angegeben.

Die Auswertung der Daten wurde in 2 Bereiche unterteilt.

Im ersten Schritt wurde der Verlauf der unterschiedlichen Parameter im gesamten Patientenkollektiv untersucht. Zur Untersuchung der Normalverteilung wurde der Shapiro-Wilk Test angewandt, da dieser besonders für kleine Stichproben ( $n < 50$ ) geeignet ist. Lag eine Normalverteilung vor, so wurde die Variable durch den T-Test für verbundene Stichproben auf Signifikanz untersucht. Bei nicht normalverteilten Variablen wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet. Die Ergebnisse der Verlaufparameter wurden als Boxplot Grafiken dargestellt. Ausreißer sind durch separate Punkte abgebildet.

Um festzustellen, wie stark und in welcher Weise ein statistischer Zusammenhang zwischen der Leberfunktion, abgebildet durch den LiMAx, und der Entzündungsreaktion, hier stellvertretend durch das IL-6 charakterisiert, besteht, wurde eine Korrelationsanalyse mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho ( $r_s$ ) durchgeführt. Die Korrelationsanalyse untersucht die Strenge des Zusammenhangs zwischen zwei Variablen und in welche Richtung, gleichgerichtet oder entgegengesetzt, der Zusammenhang verläuft. Ergebnis der Korrelationsanalyse ist der Korrelationskoeffizient  $r_s$ , der auf das Intervall (-1, +1) begrenzt ist. Bei maximaler Strenge der Beziehungen zwischen den Variablen wird der Wert +1 erreicht. Der Wert 0 deutet auf das Fehlen jeglicher Beziehung hin, wohingegen sich bei streng gegenläufiger Beziehung ein Wert von -1 ergibt. Zur Abstufung der Abhängigkeit wurde festgesetzt, dass absolute Werte  $\leq 0,2$  eine sehr geringe Korrelation und Werte  $\leq 0,5$  eine geringe Korrelation darstellen (34).

Der Wert des Koeffizienten erlaubt keine Aussage über die Kausalität der Variablen.

Um einen differenzierten Eindruck zu bekommen, welchen Einfluss die systemisch-inflammatorische Reaktion (SIRS) hat, wurde das Patientenkollektiv in 2 Gruppen eingeteilt. Gruppe A (kein SIRS) entwickelte am 1. postoperativen Tag kein SIRS und Gruppe B (SIRS) wurde nach den geltenden Kriterien (s. Tabelle 2) mit einem SIRS klassifiziert.

**Tabelle 2: Kriterien für eine systemische inflammatorische Reaktion**

***SIRS Kriterien ( $\geq 2$  Kriterien müssen erfüllt sein)\****

Temperatur	$\geq 38,0$ °C oder $\leq 36,0$ °C
Herzfrequenz	$\geq 90$ /min
Atemfrequenz	$\geq 20$ /min oder $P_aCO_2 \leq 4,3$ kPa / $\leq 33$ mmHg
Leukozyten	$\geq 12.000/mm^3$ oder $\leq 4000/mm^3$ oder mind. 10% unreife Neutrophile im Differentialblutbild

\* entnommen aus (35)

Auch hier erfolgte die Untersuchung auf Normalverteilung mittels des Shapiro-Wilk-Tests. Die Unterschiede zwischen normalverteilten Variablen wurden mittels T-Test für unverbundene Stichproben und für nicht normalverteilte Variablen mit dem Mann-

Witney-U-Test untersucht. Bei qualitativen Merkmalen kam der Chi-Quadrat-Test beziehungsweise der Fisher-Exact-Test zum Einsatz. Die Ergebnisse sind als Liniendiagramme mit Median und IQR dargestellt. In den Grafiken ist Gruppe A als durchgezogene Linie mit Punkten gekennzeichnet und Gruppe B als gestrichelte Linie mit Quadraten.

Die statistische Auswertung, Tabellen und die gezeigten Grafiken wurden mit SPSS 23 Statistics (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY, USA), Microsoft Excel (Office 2007) und Prism5 (GraphPad software, San Diego, CA, USA) realisiert.

Für alle Analysen wurde ein zweiseitig getesteter p-Wert von  $\leq 0,05$  als signifikant angenommen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen einer explorativen Datenanalyse erhoben. Die p-Werte haben keinen konfirmatorischen Charakter und es erfolgte keine Korrektur für mehrmaliges Testen.

## **3. Ergebnisse**

### **3.1 Patientencharakteristika**

In die Studie wurden 32 Patienten eingeschlossen, von denen 25 Patienten zur statistischen Auswertung herangezogen werden konnten. 4 Patienten wiederriefen ihr Einverständnis im Verlauf, 2 Patienten hatten am 1. POD septische Komplikationen und bei einem Patienten wurde intraoperativ die Entscheidung zu einer Leberteilresektion getroffen. Für den 10. POD reduzierte sich das Kollektiv weiter auf 18, da 7 Patienten bereits vorher entlassen wurden. Aufgrund organisatorischer Schwierigkeiten wurden von den ersten 4 Patienten keine Blutproben für die Zytokinbestimmung aserviert, sodass nur von 21 Patienten Zytokine (IL-6, TNF $\alpha$ , IL-8, IL-10) bestimmt werden konnten.

Tabelle 3 zeigt die präoperativen Patientencharakteristika.

**Tabelle 3: Übersicht präoperativer Patientencharakteristika**

<b>Patienten</b>	<b>25</b>
Alter	62 (56-72)
Geschlecht (m/w)	18/7
Gastrektomie (ges.)	9
<i>konventionell (offen)</i>	6/9
<i>laparoskopisch</i>	3/9
Ösophagusresektion (ges.)	16
<i>konventionell (offen)</i>	6/16
<i>laparoskopisch</i>	10/16
LiMAx (µg/kg/h)	413 (339-507)
ICG (%/min.)	20,7 (16,8-23,2)
Bilirubin (mg/dl)	0,4 (0,2-0,5)
INR	1,07 (1,01-1,16)
ALT (U/l)	23 (15-31,5)
AST (U/l)	25 (18-33)
Leukozyten (/nl)	5,8 (4,6-7,5)
CRP (mg/dl)	1,9 (0,8-5,6)
IL-6 (ng/l)	6,1 (4,6-8,7)
TNFα (pg/ml)	2,39 (1,93-4,13)
IL-8 (pg/ml)	2,4 (1,5-3,4)
IL-10 (pg/ml)	13,8 (3,2-15,6)

*Angaben in absoluten Zahlen oder als Median mit IQR (25.-75. Perzentile)*

In der Studienpopulation waren 18 Männer (72%) und 7 Frauen (28%), alle anamnestisch und klinisch lebergesund, vertreten. Es wurden 16 Ösophagusresektionen (64%) und 9 transhiatal erweiterte Gastrektomien (36%) durchgeführt. OP-Indikation war in allen Fällen ein malignes Tumorgeschehen.

## 3.2 Verlaufsparemeter

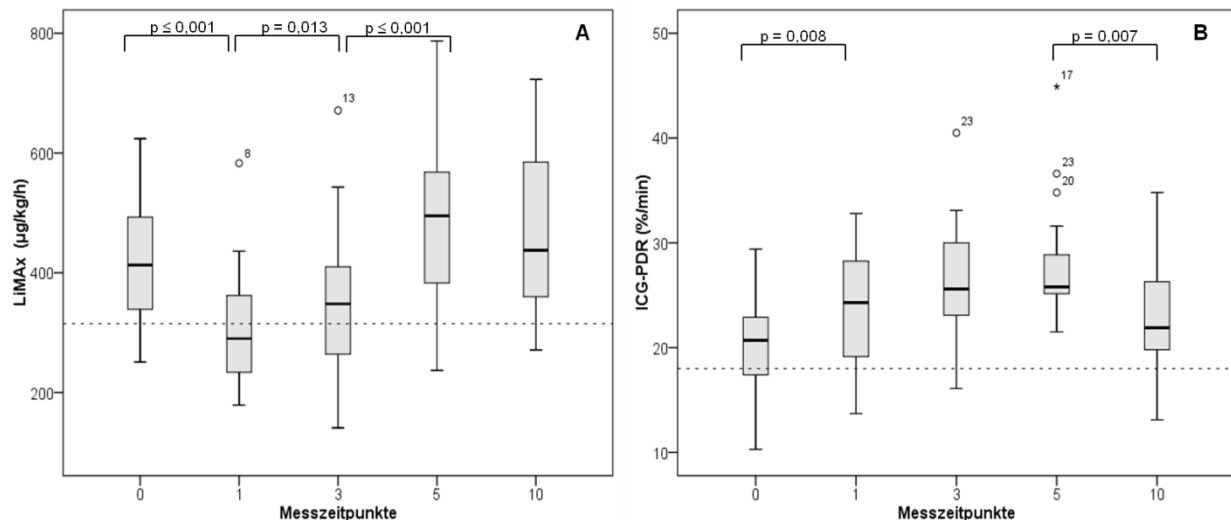
### 3.2.1 Dynamische Leberfunktionstests

Der Median der präoperativen LiMAx-Werte lag bei 413 µg/kg/h (IQR 339-507 µg/kg/h). Zum 1. POD fielen die medianen Werte statistisch signifikant unter den Referenzbereich von 315 µg/kg/h auf 290 µg/kg/h (IQR 231-368 µg/kg/h,  $p \leq 0,001$ ). Im weiteren postoperativen Verlauf zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Werte vom 1. zum 3. POD auf 348 µg/kg/h (IQR 264-414 µg/kg/h,  $p=0,013$ ) und vom 3. zum 5. POD auf 495 µg/kg/h (IQR 378-570,5 µg/kg/h,  $p < 0,001$ ). Vom 5. auf den 10. POD war ein leichter Abfall auf 437,5 µg/kg/h (IQR 357,5-585,75 µg/kg/h,  $p=0,906$ ) zu beobachten (s. Abb. 6).

Am 5. postoperativen Tag konnten aufgrund eines technischen Problems nur 24 Patienten ausgewertet werden.

Der Median der präoperativen ICG-PDR lag bei 20,7 %/min (IQR 16,8 – 23,2 %/min). Zum 1. POD stiegen die medianen Werte signifikant auf 24,3 %/min (IQR 18,9-28,5 %/min,  $p=0,008$ ) an. Die Werte blieben am 3. POD mit 25,6 %/min (IQR 22,3-30,1 %/min,  $p=0,145$ ) und 5. POD mit 25,8 %/min (IQR 25,1-29,2 %/min,  $p=0,417$ ) auf einem ähnlichen Niveau. Vom 5. zum 10. POD war ein signifikanter Abfall auf 21,9 %/min (IQR 19,2-26,8 %/min,  $p=0,007$ ) zu verzeichnen (s. Abb. 6).

In 3 Fällen (12%) konnte die ICG-PDR auf Grund eines Signalverlustes infolge insuffizienter peripherer Durchblutung nicht bestimmt werden (einmal am 1. POD,  $n=24$ ; zweimal am 5. POD,  $n=23$ ).



**Abb. 6: Verlauf der dynamischen Leberfunktionstests**

(A) Maximale Leberfunktionskapazität (LiMAX) (B) Indocyaningrün-Plasmaverschwinderate (ICG-PDR). Die Ergebnisse sind als Boxplot mit Median und IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

**3.2.2 Statische Leberfunktionsparameter**

Der Median der präoperativen Bilirubinwerte lag bei 0,4 mg/dl (IQR 0,2-0,5 mg/dl). Zum 1. POD stiegen die Werte signifikant auf 0,5 mg/dl (IQR 0,4-0,7 mg/dl,  $p \leq 0,001$ ) an. Im weiteren postoperativen Verlauf zeigte sich ein signifikanter Abfall der Werte vom 1. zum 3. POD auf 0,3 mg/dl (IQR 0,2-0,4 mg/dl,  $p \leq 0,001$ ) und vom 3. zum 5. POD auf 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,3 mg/dl,  $p = 0,006$ ). Am 10. POD blieben die Werte mit 0,23 mg/dl (IQR 0,16-0,27 mg/dl,  $p = 0,501$ ) auf ähnlichem Niveau wie am 5. POD.

Es konnte zu keinem Zeitpunkt ein Bilirubinspiegel oberhalb des Referenzwertes von 1,2 mg/dl detektiert werden (s. Abb. 7).

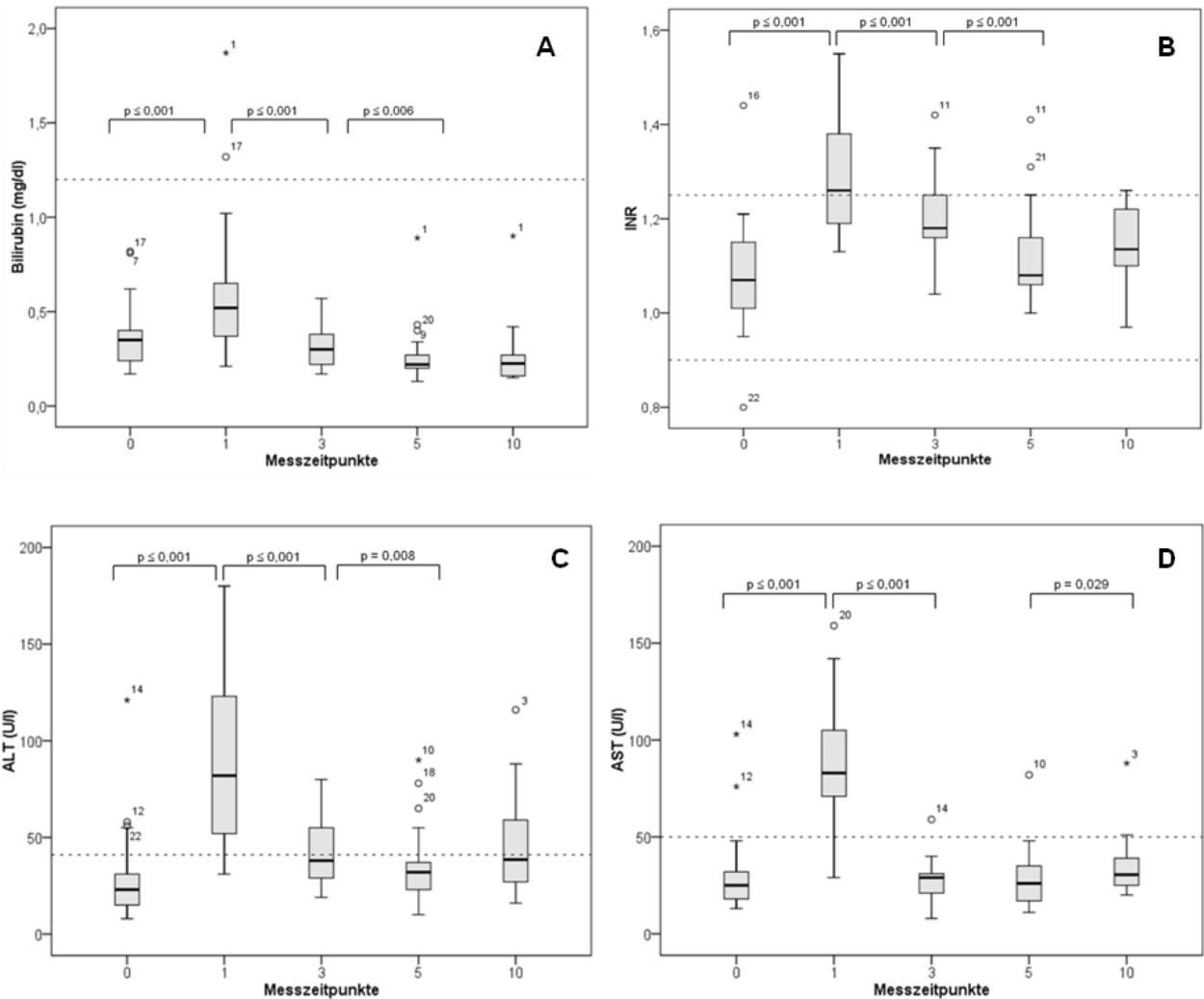
Der Median der präoperativen INR-Werte lag bei 1,07 (IQR 1,01 - 1,16). Zum 1. POD stiegen die medianen Werte signifikant über den Referenzbereich von 1,25 auf 1,26 (IQR 1,18-1,4,  $p \leq 0,001$ ) an. Im Verlauf sanken die Werte kontinuierlich vom 1. auf den 3. POD auf 1,18 (IQR 1,15-1,27,  $p = 0,001$ ) und vom 3. auf den 5. POD auf 1,08 (IQR 1,06-1,116,  $p \leq 0,001$ ). Vom 5. zum 10. POD war ein leichter, nicht signifikanter Anstieg auf 1,14 (IQR 1,10-1,22,  $p = 0,447$ ) zu beobachten (s. Abb. 7).

Der Median der präoperativen Alanin-Aminotransferase (ALT)-Werte lag bei 23 U/l (IQR 15-31,5 U/l). Zum 1. POD stiegen die medianen Werte signifikant über den

Referenzbereich von <41 U/l auf 82 U/l (IQR 49,5-124,5 U/l,  $p \leq 0,001$ ) an. Im Verlauf zeigte sich ein signifikanter Abfall vom 1. zum 3. POD auf 38 U/l (IQR 28,5-55 U/l,  $p \leq 0,001$ ) und vom 3. auf den 5. POD auf 32 U/l (IQR 23-37,5 U/l,  $p = 0,008$ ). Am 10. POD blieben die Werte mit 38 U/l (IQR 25,8-59,5 U/l,  $p = 0,065$ ) auf ähnlichem Niveau wie am 5. POD (s. Abb. 7).

Der Median der präoperativen Aspartat-Aminotransferase (AST)-Werte lag bei 25 U/l (IQR 18-33 U/l). Zum 1. POD stiegen die medianen Werte signifikant über den Referenzbereich von < 50 U/l auf 83 U/l (IQR 63-109 U/l,  $p \leq 0,001$ ) an und fielen vom 1. zum 3. POD auf 29 U/l (IQR 21-31,5 U/l,  $p \leq 0,001$ ) signifikant ab. Am 5. POD blieben die Werte mit 26 U/l (IQR 16,5-35 U/l,  $p = 0,182$ ) auf konstantem Niveau. Vom 5. zum 10. POD zeigte sich ein erneuter statistisch signifikanter Anstieg der Werte auf 30,5 U/l (IQR 24,3-39,5 U/l,  $p = 0,029$ ) (s. Abb. 7).





**Abb. 7: Verlauf der statischen Leberfunktionsparameter**

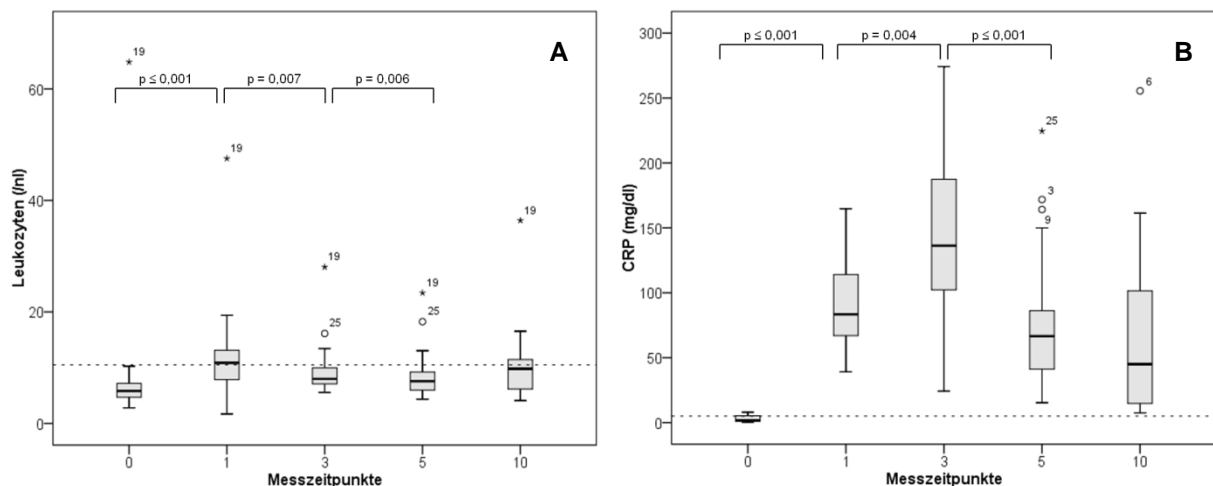
(A) Bilirubin (B) INR (C) ALT (D) AST. Die Ergebnisse sind als Boxplot mit Median und IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

### 3.2.3 Klassische Entzündungsparameter

Der Median der präoperativen Leukozytenzahl lag bei 5,8/nl (IQR 4,4-7,5/nl). Zum 1. POD stiegen die Werte signifikant auf 10,9/nl (IQR 7,7-13,2/nl,  $p \leq 0,001$ ) an und lagen somit oberhalb des Referenzbereiches von 10,5/nl. Im weiteren Verlauf war ein signifikanter Abfall vom 1. zum 3. POD auf 8/nl (IQR 7-10,2/nl,  $p = 0,007$ ) und vom 3. zum 5. POD auf 7,6/nl (IQR 5,8-9,5/nl,  $p = 0,006$ ) zu verzeichnen. Am 10. POD zeigte sich ein leichter Anstieg auf 9,8/nl (IQR 6,1-11,9/nl,  $p = 0,157$ ) (s. Abb. 8).

Der Median der präoperativen CRP Werte lag bei 1,9 mg/dl (IQR 0,8- 5,6 mg/dl). Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg über den Referenzbereich von <5 mg/dl zum 1.

POD auf 83,4 mg/dl (IQR 66,9-115,5 mg/dl,  $p \leq 0,001$ ) und vom 1. zum 3. POD auf 136,3 mg/dl (IQR 85,8-188,3 mg/dl,  $p = 0,004$ ), gefolgt von einem signifikanten Abfall vom 3. zum 5. POD auf 66,6 mg/dl (IQR 40,5-89,9 mg/dl,  $p \leq 0,001$ ). Vom 5. zum 10. POD war ein weiterer, jedoch nicht signifikanter Abfall auf 45,1 mg/dl (IQR 14,4-105 mg/dl,  $p = 0,386$ ) zu verzeichnen (s. Abb. 8).



### Abb. 8: Verlauf der klassischen Entzündungsparameter

(A) Leukozyten (B) CRP. Die Ergebnisse sind als Boxplot mit Median und IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

## 3.2.4 Zytokine

### Interleukin 6

Der Median der präoperativen IL-6 Werte lag bei 6,1 ng/l (IQR 4,6-8,8 ng/l) und damit unterhalb des Referenzbereiches von 7 ng/l.

Zum 1. POD konnte ein signifikanter Anstieg des IL-6 auf 211 ng/l (IQR 149,4-404,2 ng/l,  $p \leq 0,001$ ) verzeichnet werden, gefolgt von einem signifikanten Abfall vom 1. zum 3. POD auf 51,2 ng/l (IQR 35,6-105,4 ng/l,  $p \leq 0,001$ ). Am 5. POD blieb das IL-6 mit 42,1 ng/l (IQR 21,9-107,4 ng/l,  $p = 0,211$ ) auf ähnlich hohem Niveau und fiel vom 5. zum 10. POD auf 22,5 ng/l (IQR 13,0-66,5 ng/l,  $p = 0,005$ ) signifikant ab (s. Abb. 9). Am 10. POD reduzierte sich die Anzahl von zuvor 21 auf 15 Proben.

### Tumornekrosefaktor alpha

Der Median der präoperativen Werte für den TNF $\alpha$  lag bei 2,39 pg/ml (IQR 1,93-4,13 pg/ml) und somit oberhalb des Referenzwertes von 1,04 pg/ml. Es zeigte sich ein nicht signifikanter Anstieg zum 1. POD auf 2,54 pg/ml (IQR 1,88-3,90 pg/ml,  $p=0,72$ ) und vom 1. zum 3. POD auf 3,05 pg/ml (IQR 1,48-6,60 pg/ml,  $p=0,913$ ). Vom 3. zum 5. POD war ein geringfügiger Abfall auf 3,02 pg/ml (IQR 1,96-4,97 pg/ml,  $p=0,748$ ) zu verzeichnen, gefolgt von einem erneuten Anstieg vom 5. zum 10. POD auf 3,95 pg/ml (IQR 2,82-11,94 pg/ml,  $p=0,754$ ) (s. Abb. 9).

Infolge der niedrigen Konzentrationen kam es zu technischen Problemen mit den ELISA Kits. Aufgrund dessen konnten für einige Proben keine Messwerte detektiert werden. In der Auswertung sind diese Werte als fehlend bzw. nicht detektierbar eingetragen worden, sodass sich folgende Anzahl für die jeweiligen Studientage ergab: präOP:  $n=18$ ; 1. POD:  $n=19$ ; 3. POD:  $n=19$ ; 5. POD:  $n=20$ ; 10. POD:  $n=12$

### Interleukin 8

Der Median der präoperativen IL-8 Werte lag bei 2,4 pg/ml (IQR 1,5-3,4 pg/ml) und somit unterhalb des Referenzbereiches von 4,5 pg/ml. Zum 1. POD zeigte sich ein signifikanter Anstieg der Werte auf 3,8 pg/ml (IQR 2,7-6,2 pg/ml,  $p=0,013$ ). Vom 1. zum 3. POD fielen die Werte signifikant auf 2,8 pg/ml (IQR 1,8-4,3 pg/ml,  $p=0,003$ ) ab. Die Werte blieben am 5. POD mit 2,7 pg/ml (IQR 2,3-4,8 pg/ml,  $p=0,198$ ) und am 10. POD mit 3,3 pg/ml (IQR 1,4-4,5 pg/ml,  $p=0,363$ ) auf ähnlichem Niveau (s. Abb. 9).

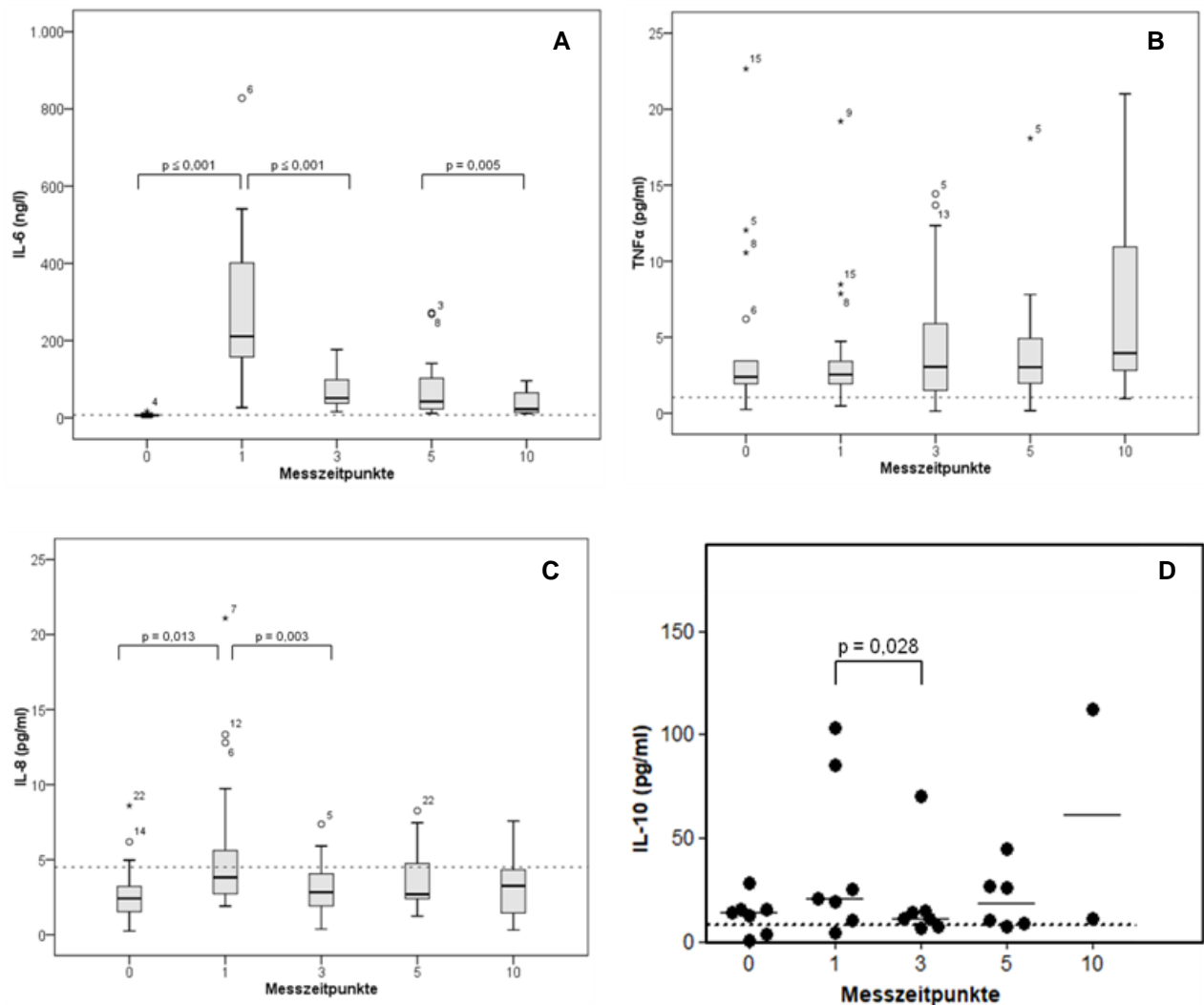
Auch beim IL-8 waren die ermittelten Werte auf niedrigem Niveau. Diese niedrigen Konzentrationen haben bei 3 Proben zu Messfehlern geführt, weshalb präoperativ nur 19 Proben zur Auswertung kamen und am 10. POD 14 Proben.

### Interleukin 10

Der Median der präoperativen IL-10 Werte lag bei 13,8 pg/ml (IQR 3,2-15,6 pg/ml) und somit oberhalb des Referenzwertes von  $<7,8$  pg/ml. Zum 1. POD stieg das IL-10 auf 20,8 pg/ml (IQR 10,2-85,3 pg/ml,  $p=0,128$ ) an und fiel vom 1. zum 3. POD auf 11,4 pg/ml (7,2-15,1 pg/ml,  $p=0,028$ ) signifikant ab. Das Niveau blieb am 5. POD mit 18,2 pg/ml (IQR 7,2-31 pg/ml,  $p=0,917$ ) annähernd gleich. Die 2 Probanden am 10. POD wiesen Werte von 10,8 pg/ml und 61,6 pg/ml auf (s. Abb. 9).

Für das IL-10 konnten präoperativ, am 1. und am 3. POD nur 7 Proben zur Auswertung herangezogen werden, da in den restlichen Proben keine messbare Konzentration

bestimmt werden konnte. Für den 5. POD reduzierte sich die Menge auf 6 Proben und für den 10. POD auf 2 Proben.



**Abb. 9: Verlauf der Zytokine**

(A) IL-6 (B) TNF $\alpha$  (C) IL-8 (D) IL-10. Die Ergebnisse für A, B und C sind als Boxplot mit Median und IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Ergebnisse für D sind als Streudiagramm mit Median dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

### 3.3 Korrelation von Inflammation und Leberfunktion

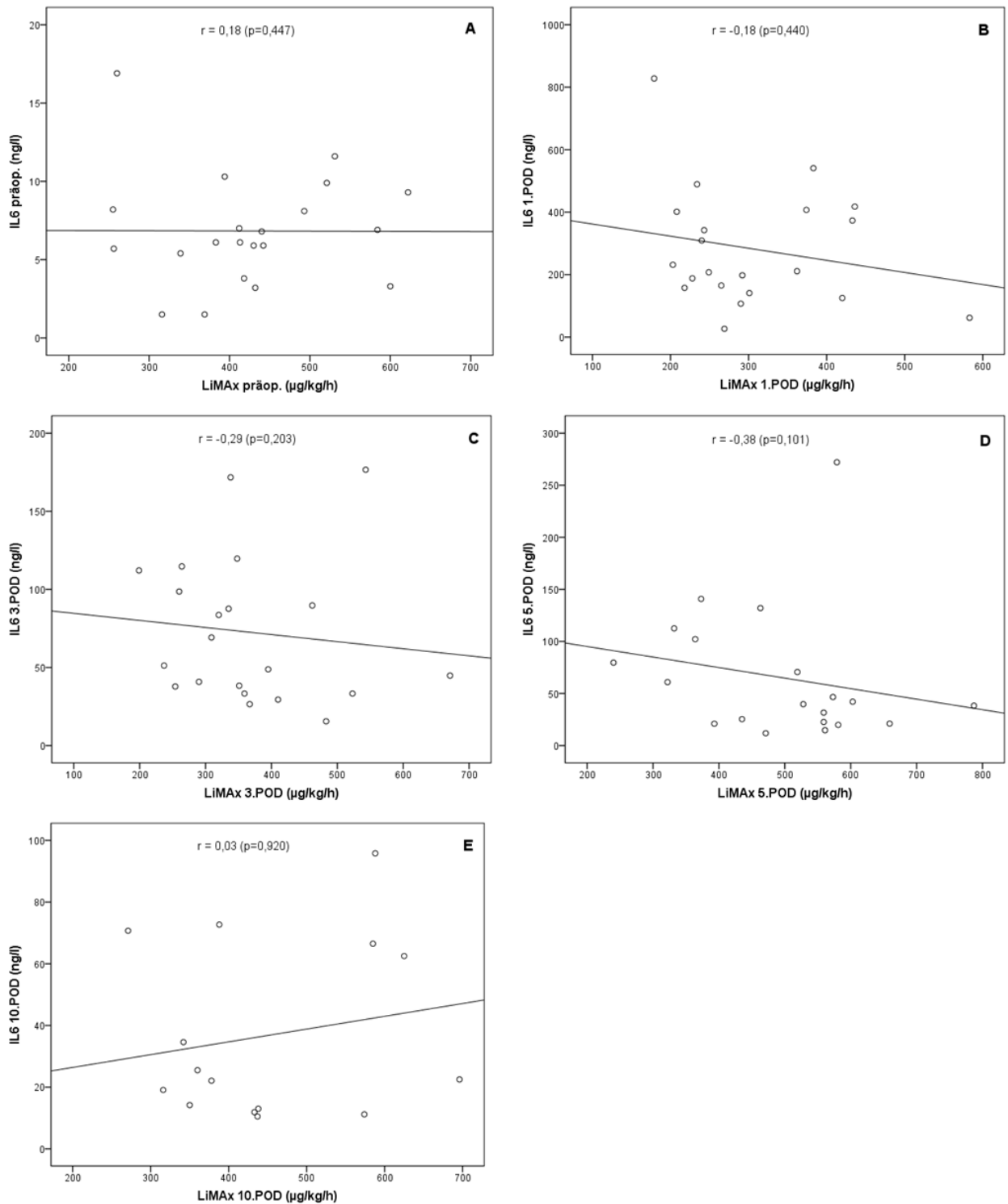
Bei der Korrelationsanalyse von LiMAX und IL-6 ergab sich präoperativ ein geringer Zusammenhang ( $r_s=0,18$ ,  $p=0,447$ ) zwischen den Variablen. Am 1. POD war eine gegenläufige Korrelation ( $r_s= -0,18$ ,  $p=0,440$ ) zu verzeichnen. Am 3. und 5. POD verstärkte sich die gegenläufige Beziehung geringfügig (3. POD:  $r_s=-0,29$ ,  $p=0,203$ ; 5.

POD:  $r_s = -0,38$ ,  $p = 0,101$ ), aber nicht signifikant. Zum 10. POD nahm die Strenge des Zusammenhangs ab ( $r_s = 0,03$ ,  $p = 0,920$ ) (s. Tabelle 4 und Abb. 10).

**Tabelle 4: Zusammenhang zwischen LiMAx und IL-6-Konzentration**

	<b>Korrelationskoeffizient <math>r_s</math> nach Spearman [95% CI]</b>	<b>P-Wert</b>
präop LiMAx - präop IL6 (n=21)	0,18 [-0,29;0,57]	0,447
1.POD LiMAx - 1.POD IL6 (n=21)	- 0,18 [-0,58;0,29]	0,440
3.POD LiMAx - 3.POD IL6 (n=21)	- 0,29 [-0,65;0,18]	0,203
5.POD LiMAx - 5.POD IL6 (n=20)	-0,38 [-0,71;0,09]	0,101
10.POD LiMAx - 10.POD IL6 (n=15)	0,03 [-0,50;0,55]	0,920

*Dargestellt sind die Ergebnisse der Korrelationsanalyse mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ( $r_s$ ) und dem 95% Konfidenzintervall für den LiMAx und IL-6.*



**Abb. 10: Streudiagramme der Korrelationsanalyse nach Spearman**

(A) LiMAX präOP vs. IL-6 präOP (B) LiMAX 1.POD vs. IL-6 1.POD (C) LiMAX 3.POD vs. IL-6 3.POD (D) LiMAX 5.POD vs. IL-6 5.POD (E) LiMAX 10.POD vs. IL-6 10.POD

### **3.4 Gruppenanalysen**

#### **3.4.1 Patientencharakteristika in den Gruppen kein SIRS vs. SIRS**

Beim Vergleich von Gruppe A und Gruppe B ergaben sich in drei Kategorien signifikante Unterschiede am 1. postoperativen Tag. Gruppe B wies mit 13,1/nl (IQR 11,5-18,1/nl,  $p=0,002$ ) höhere Leukozytenzahlen auf als Gruppe A mit 8,4/nl (IQR 6,8-11/nl). Gruppe B war mit 56 Jahren (IQR 39-85 Jahre;  $p=0,04$ ) im Median 9 Jahre jünger als Gruppe A mit 65 Jahren (IQR 54-77 Jahre). Bezüglich der Leberparameter ließ sich ein Unterschied in der ICG-PDR zwischen den Gruppen feststellen. Bei den Patienten mit SIRS lag der Median der ICG-PDR mit 27,6 %/min (IQR 24,1-29,6 %/min,  $p=0,01$ ) signifikant höher als der Median der ICG-PDR der Patienten ohne SIRS mit 20,5%/min (IQR 15,5-27,2 %/min) (s. Tabelle 5).

**Tabelle 5: Überblick Patientencharakteristika ohne und mit SIRS**

	<b>Gruppe A</b> (Kein SIRS)	<b>Gruppe B</b> (SIRS)	<b>p-Wert</b> <sup>a</sup>
Patienten	16	9	
Geschlecht (m/w)	12/4	6/3	0,673
Alter	65 (54/77)	56 (39/85)	<b>0,044</b>
OP (Magen/Ösophagus)	5/11	4/5	0,671
OP-Art (offen/lap.)	8/8	4/5	1,000
OP-Dauer (min)	422 (372-469)	382 (307-503)	0,445
LiMAx (µg/kg/h)	295,5 (216-360,3)	269 (231-391)	0,984
ICG (%/min)	20,5 (17,5-27,2)	27,6 (24,1-29,6)	<b>0,011</b>
INR	1,29 (1,24-1,39)	1,21 (1,15-1,42)	0,610
ALT (U/l)	70 (43,8-102,3)	114 (64,5-141)	0,079
AST (U/l)	77,5 (50,3-102)	97 (77-127,5)	0,240
Hb (g/dl)	9,8 (8,7-10,3)	10,1 (9,3-11)	0,364
Leukozyten (/nl)	8,4 (6,8-11)	13,1 (11,5-18,1)	<b>0,002</b>
CRP (mg/dl)	78,1 (66,7-107,6)	110,5 (64,85-140,05)	0,107
IL-6 (ng/l)	325,7 (147-415)	197,8 (141-292)	0,195
TNFα (pg/ml)	2,6 (2,3-5,5)	2 (1,6-3,3)	0,142
IL-8 (pg/ml)	3,8 (2,8-9)	3,8 (2,4-4,9)	0,477
IL-10 (pg/ml)	56 (10,2-103,2)	14,9 (4,6-20,8)	0,191
max. Herzfrequenz (/min)	86 (75-92)	100 (80-108)	0,118
LOS ICU	5 (3/7)	4 (3/6)	0,344

Angaben in absoluten Zahlen oder als Median mit IQR (25. und 75. Perzentile); IL-10 als Mittelwert mit Minimum und Maximum (min/max)

<sup>a</sup>: p-Wert ermittelt mit: Fisher Exakt Test, Chi-Quadrat Test, T-Test für unabhängige Stichproben, Mann-Whitney U Test

### 3.4.2 SIRS und dynamische Leberfunktion

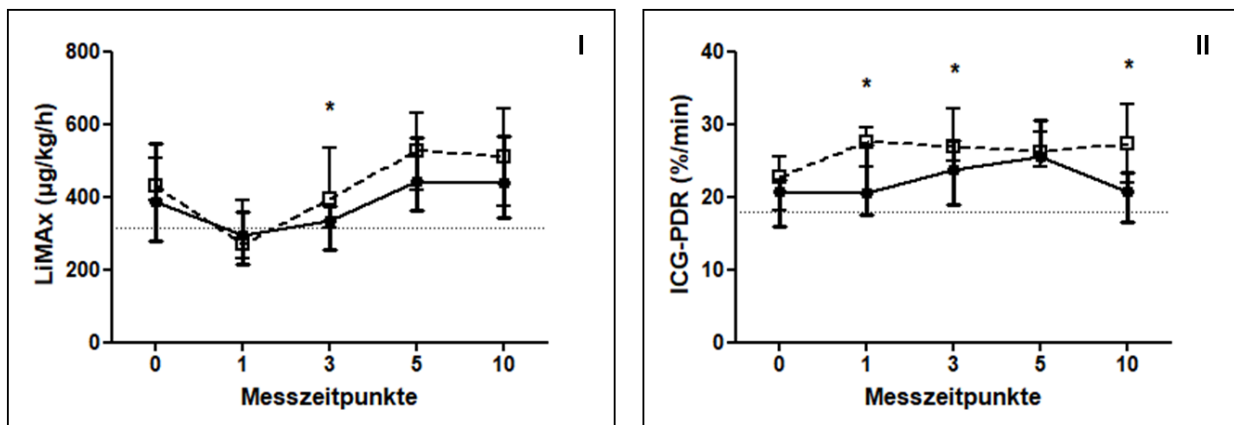
Der Median der LiMAx-Werte der Gruppe A lag präoperativ bei 388,4 µg/kg/h (IQR 279,8-548 µg/kg/h), am 1. POD bei 295,5 µg/kg/h (IQR 216-360,3 µg/kg/h), am 3. POD bei 336,5 µg/kg/h (IQR 255,5-373,3 µg/kg/h), am 5. POD bei 443 µg/kg/h (IQR 364-561 µg/kg/h) und am 10. POD bei 437,5 µg/kg/h (IQR 344-567,5 µg/kg/h).



Die medianen LiMAx-Werte der Gruppe B lagen präoperativ bei 430  $\mu\text{g/kg/h}$  (IQR 390,5-507  $\mu\text{g/kg/h}$ ), am 1. POD bei 269  $\mu\text{g/kg/h}$  (IQR 231-391  $\mu\text{g/kg/h}$ ), am 3. POD bei 395  $\mu\text{g/kg/h}$  (IQR 314,5-533  $\mu\text{g/kg/h}$ ), am 5. POD bei 528  $\mu\text{g/kg/h}$  (IQR 418-631  $\mu\text{g/kg/h}$ ) und am 10. POD bei 510,5  $\mu\text{g/kg/h}$  (IQR 373,5-642,8  $\mu\text{g/kg/h}$ ).

Der Vergleich der LiMAx-Werte beider Gruppen zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied am 3. POD ( $p=0,039$ ) (s. Abb. 11).

Der Median der ICG-PDR der Gruppe A lag präoperativ bei 20,7  $\%/min$  (IQR 16-22,4  $\%/min$ ), am 1. POD bei 20,5  $\%/min$  (IQR 17,5-27,2  $\%/min$ ), am 3. POD bei 23,8  $\%/min$  (IQR 18,9-27,8  $\%/min$ ), am 5. POD bei 25,6  $\%/min$  (IQR 25,1-30,6  $\%/min$ ) und am 10. POD bei 20,8  $\%/min$  (IQR 16,6-23,4  $\%/min$ ). Gruppe B zeigte präoperativ mediane Werte von 22,7  $\%/min$  (IQR 18,1-25,5  $\%/min$ ), am 1. POD von 27,6  $\%/min$  (IQR 24,1-29,6  $\%/min$ ), am 3. POD von 26,9  $\%/min$  (IQR 25-32,2  $\%/min$ ), am 5. POD von 26,2  $\%/min$  (IQR 24,2-28,9  $\%/min$ ) und am 10. POD von 27,3  $\%/min$  (IQR 21,9-32,8  $\%/min$ ). Beim Vergleich der ICG-PDR von Gruppe A und B zeigten sich signifikante Unterschiede an den postoperativen Tagen 1 ( $p=0,014$ ), 3 ( $p=0,025$ ) und 10 ( $p=0,017$ ) (s. Abb. 11).



**Abb. 11: Verlauf der dynamischen Leberfunktionsparameter der Gruppen A und B**  
 (I) LiMAx (II) ICG-PDR. Gruppe A: durchgezogene Linie mit Punkt; Gruppe B: gestrichelte Linie mit Quadrat. Die Ergebnisse sind als Median mit IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

\*  $p \leq 0,05$

### 3.4.3 SIRS und statische Leberfunktion

In Gruppe A lag der Median der Bilirubinwerte präoperativ bei 0,4 mg/dl (IQR 0,4-0,6 mg/dl), am 1. POD bei 0,6 mg/dl (IQR 0,5-0,8 mg/dl), am 3. POD bei 0,3 mg/dl (IQR 0,2-0,4 mg/dl), am 5. POD bei 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,3 mg/dl) und am 10. POD bei 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,3 mg/dl). Der Median der Bilirubinwerte der Gruppe B zeigte präoperativ Werte von 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,3 mg/dl), am 1. POD von 0,4 mg/dl (IQR 0,3-0,5 mg/dl), am 3. POD von 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,4 mg/dl), am 5. POD von 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,3 mg/dl) und am 10. POD von 0,2 mg/dl (IQR 0,2-0,3 mg/dl).

Der Vergleich der Bilirubinwerte der Gruppe A und B ergab einen signifikanten Unterschied präoperativ ( $p=0,003$ ) sowie am 1. POD ( $p=0,012$ ).

Im weiteren postoperativen Verlauf zeigten sich keine weiteren statistisch relevanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Zu keinem Zeitpunkt stieg das Bilirubin über die Grenze von 1,2 mg/dl (s. Abb. 12).

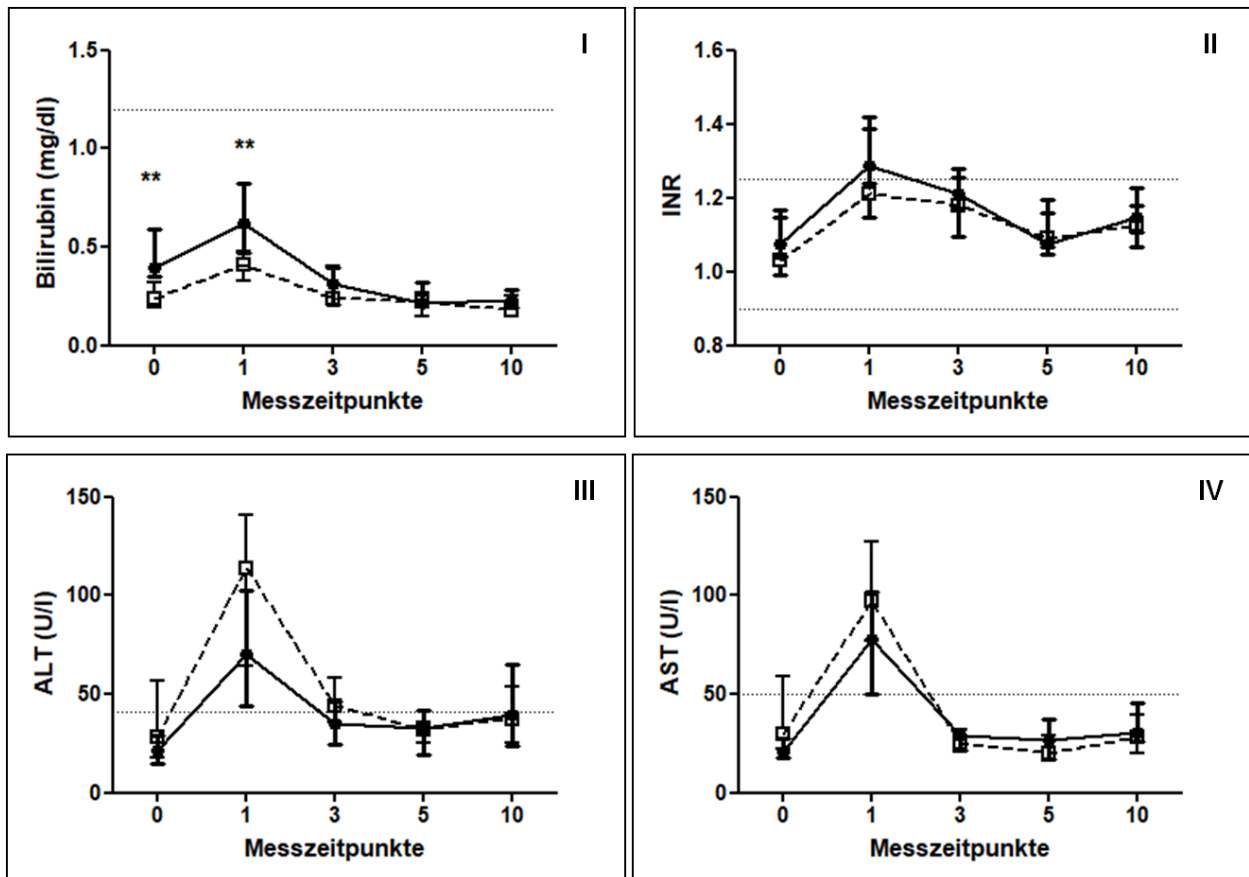
Der Median der INR in Gruppe A lag präoperativ bei 1,08 (IQR 1,04-1,17), am 1. POD bei 1,29 (IQR 1,24-1,39), am 3. POD bei 1,21 (IQR 1,17-1,28), am 5. POD bei 1,08 (IQR 1,05-1,16) und am 10. POD bei 1,15 (IQR 1,07-1,23). In Gruppe B wies der Median der INR präoperativ Werte von 1,03 (IQR 0,99-1,15), am 1. POD von 1,21 (IQR 1,15-1,42), am 3. POD von 1,18 (IQR 1,1-1,26), am 5. POD von 1,09 (IQR 1,07-1,2) und am 10. POD von 1,13 (IQR 1,11-1,18) auf (s. Abb. 12).

Präoperativ zeigte die ALT der Gruppe A mediane Werte von 21,5 U/l (IQR 15-29 U/l), am 1. POD von 70 U/l (IQR 43,8-102,3 U/l), am 3. POD von 35 U/l (IQR 24,3-46,5 U/l), am 5. POD von 32,5 U/l (IQR 19,3-41,5 U/l) und am 10. POD von 39,5 U/l (IQR 24-64,8 U/l). Der Median der ALT-Werte der Gruppe B lag präoperativ bei 28 U/l (IQR 18-57 U/l), am 1. POD bei 114 U/l (IQR 64,5-141 U/l), am 3. POD bei 44 U/l (IQR 35,5-58,5 U/l), am 5. POD bei 32 U/l (IQR 25,5-36 U/l) und am 10. POD bei 37,5 U/l (IQR 25-53,8 U/l) (s. Abb. 12).

Der Median der AST-Werte der Gruppe A ergab präoperativ einen Wert von 21 U/l (IQR 18-27,5 U/l), am 1. POD von 77,5 U/l (IQR 50,3-102 U/l), am 3. POD von 29 U/l (IQR 21,5-31,8 U/l), am 5. POD von 27 U/l (IQR 17,3-37,3 U/l) und am 10. POD von 30,5 U/l (IQR 26,3-45,8 U/l). In der Gruppe B lag der Median der AST-Werte präoperativ bei 30 U/l (IQR 22,5-59 U/l), am 1. POD bei 97 U/l (IQR 77-127,5 U/l), am 3. POD bei 25 U/l

(IQR 20,5-32 U/l), am 5. POD bei 20 U/l (IQR 16-29 U/l) und am 10. POD bei 28 U/l (IQR 20-39,5 U/l) (s. Abb. 12).

Sowohl für die INR, als auch für die Transaminasen ergaben sich im gesamten Verlauf keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe A und B.



**Abb. 12: Verlauf der statischen Leberparameter der Gruppen A und B**

(I) Bilirubin (II) INR (III) ALT (IV) AST. Gruppe A: durchgezogene Linie mit Punkt; Gruppe B: gestrichelte Linie mit Quadrat. Die Ergebnisse sind als Median mit IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

\*\*  $p \leq 0,01$

### 3.4.4 SIRS und Inflammation

#### Klassische Entzündungsparameter

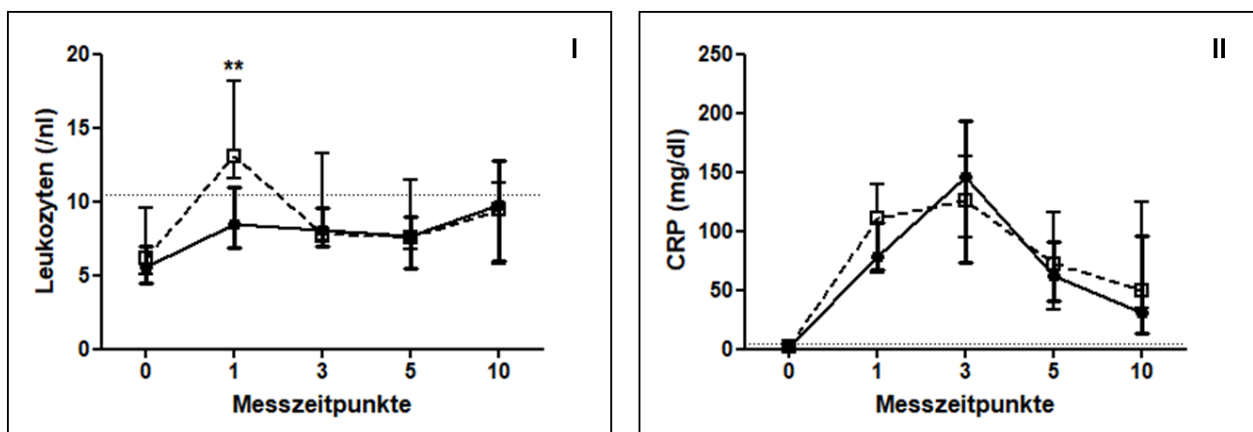
Der Median der Leukozytenzahl der Gruppe A lag präoperativ bei 5,5/nl (IQR 4,5-6,9/nl), am 1. POD bei 8,4/nl (IQR 6,8-11/nl), am 3. POD bei 8,1/nl (IQR 7-9,6/nl), am 5. POD bei 7,7/nl (IQR 5,4-9/nl) und am 10. POD bei 9,8/nl (IQR 5,9-12,8/nl). In Gruppe B

zeigten sich präoperativ mediane Leukozytenzahlen von 6,2/nl (IQR 5,1-9,5/nl), am 1. POD von 13,2/nl (IQR 11,5-18,1/nl), am 3. POD von 7,8/nl (IQR 7,3-13,2/nl), am 5. POD von 7,6/nl (IQR 6,8-11,4/nl) und am 10. POD von 9,4/nl (IQR 5,8-11,2/nl).

Der Vergleich der Leukozytenkonzentration in den Gruppen A und B erbrachte einen signifikanten Unterschied am 1. POD ( $p=0,002$ ). In Gruppe B wurde dabei auch der obere Normbereich von 10,5/nl überschritten (s. Abb. 13).

Der mediane CRP-Wert der Gruppe A belief sich präoperativ auf 1,8 mg/dl (IQR 0,7-5,4 mg/dl), am 1. POD auf 78,1 mg/dl (IQR 66,7-107,6 mg/dl), am 3. POD auf 145,4 mg/dl (IQR 73,1-193,6 mg/dl), am 5. POD auf 62 mg/dl (IQR 41,1-91,3 mg/dl) und am 10. POD auf 31,3 mg/dl (IQR 13,7-96,2 mg/dl). In Gruppe B lag der Median der CRP-Werte präoperativ bei 2,3 mg/dl (IQR 0,7-5,8 mg/dl), am 1. POD bei 110,5 mg/dl (IQR 64,9-140,1 mg/dl), am 3. POD bei 125,6 mg/dl (IQR 95,1-164 mg/dl), am 5. POD bei 72,4 mg/dl (IQR 33,4-115,4 mg/dl) und am 10. POD bei 49,7 mg/dl (IQR 35,1-125,1 mg/dl).

Für das CRP ergaben sich im gesamten Verlauf keine statistisch signifikanten Unterschiede beim Vergleich beider Gruppen. Es zeigte sich aber ein CRP-Maximum für beide Gruppen am 3. POD ( $p=0,777$ ) (s. Abb. 13).



**Abb. 13: Verlauf der klassischen Entzündungsparameter der Gruppen A und B**

(I) Leukozyten (II) CRP. Gruppe A: durchgezogene Linie mit Punkt; Gruppe B: gestrichelte Linie mit Quadrat. Die Ergebnisse sind als Median mit IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

\*\*  $p \leq 0,01$

## Zytokine

Für das IL-6 wurden 12 Patienten der Gruppe A und 9 Patienten der Gruppe B zugeordnet. Am 10. POD konnten in Gruppe A 9 und in Gruppe B noch 6 Patienten ausgewertet werden.

In Gruppe A lag der Median der IL-6-Werte präoperativ bei 6,5 ng/l (IQR 4,2-9 ng/l), am 1. POD bei 325,7 ng/l (IQR 147,1-415,1 ng/l), am 3. POD bei 69,4 ng/l (IQR 37,9-108,7 ng/l), am 5. POD bei 53,8 ng/l (IQR 23,3-96,6 ng/l) und am 10. POD bei 19,1 ng/l (IQR 12,1-68,6 ng/l). In Gruppe B zeigten sich präoperativ mediane IL-6-Werte von 6,1 ng/l (IQR 3,7-9 ng/l), am 1. POD von 197,8 ng/l (IQR 141,5-292,1 ng/l), am 3. POD von 48,8 ng/l (IQR 29,9-99,2 ng/l), am 5. POD von 39,7 ng/l (IQR 20,5-122,3 ng/l) und am 10. POD von 24 ng/l (IQR 19,6-70,8 ng/l).

Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Gruppen A und B. Beide Gruppen zeigten am 1. POD ihre maximale Plasmakonzentration ( $p=0,256$ ) (s. Abb. 14).

Für TNF $\alpha$  konnten die im Folgenden aufgelistete Anzahl an Proben analysiert werden.

Gruppe A: PräOP: n=10; 1. POD: n=10; 3. POD: n=11; 5. POD: n=11; 10. POD: n=8

Gruppe B: PräOP n= 8; 1. POD: n=9; 3. POD: n=8; 5. POD: n=9; 10. POD: n=4

In Gruppe A lag der Median der TNF $\alpha$ -Werte präoperativ bei 2,9 pg/ml (IQR 1,6-7,3 pg/ml), am 1. POD bei 2,6 pg/ml (IQR 2,3-5,5 pg/ml), am 3. POD bei 3,1 pg/ml (IQR 0,7-7,7 pg/ml), am 5. POD bei 3,2 pg/ml (IQR 2,6-7,8 pg/ml) und am 10. POD bei 4,1 pg/ml (IQR 3,1-12,5 pg/ml). In Gruppe B zeigten sich präoperativ mediane TNF $\alpha$ -Werte von 2,1 pg/ml (IQR 1,9-2,6 pg/ml), am 1. POD von 2 pg/ml (IQR 1,6-3,3 pg/ml), am 3. POD von 3,3 pg/ml (IQR 1,6-6,2 pg/ml), am 5. POD von 2 pg/ml (IQR 1,6-4,4 pg/ml) und am 10. POD von 3,1 pg/ml (IQR 1,3-10,7 pg/ml).

Der Vergleich der Gruppen A und B zeigte keine signifikanten Unterschiede (s. Abb. 14).

Für das IL-8 wurden präoperativ der Gruppe A 11 Patienten und der Gruppe B 8 Patienten zugeordnet. Für die Tage 1, 3 und 5 ergaben sich für A n=12 und für B n=9. Am 10. POD reduzierte sich das Kollektiv für A auf n=9 und für B auf n=5.

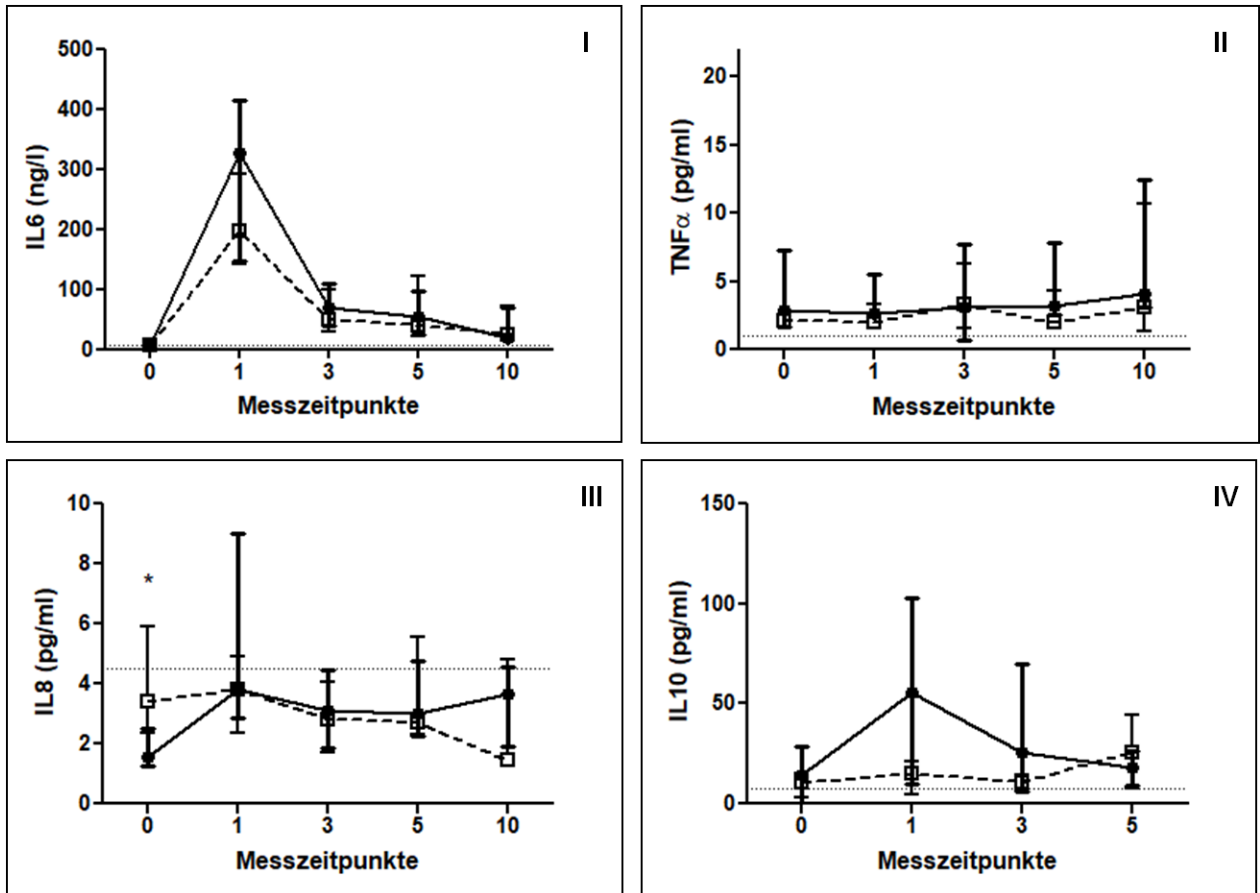
In Gruppe A beliefen sich die präoperativen IL-8-Werte auf 1,6 pg/ml (IQR 1,3-2,5 pg/ml), am 1. POD auf 3,8 pg/ml (IQR 2,8-9 pg/ml), am 3. POD auf 3,1 pg/ml (IQR 1,9-4,4 pg/ml), am 5. POD auf 3 pg/ml (IQR 2,3-4,8 pg/ml) und am 10. POD auf 3,6 pg/ml

(IQR 1,9-4,6 pg/ml). Der Median der IL-8-Werte in Gruppe B lag präoperativ bei 3,4 pg/ml (IQR 2,4-5,9 pg/ml), am 1. POD bei 3,8 pg/ml (IQR 2,4-4,9 pg/ml), am 3. POD bei 2,8 pg/ml (IQR 1,7-4,1 pg/ml), am 5. POD bei 2,7 pg/ml (IQR 2,3-5,6 pg/ml) und am 10. POD bei 1,5 pg/ml (IQR 1,3-4,8 pg/ml).

Beim Vergleich der Gruppen ergab sich einzig für das präoperative Ausgangsniveau ein signifikanter Unterschied ( $p=0,017$ ). Im postoperativen Verlauf konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede detektiert werden (s. Abb. 14).

Präoperativ sowie am 1. und 3. POD konnten für das IL-10 lediglich 4 Proben in Gruppe A und 3 Proben in Gruppe B ausgewertet werden. Am 5. POD waren es 4 Proben für Gruppe A und 2 Proben für Gruppe B. Am 10. POD lagen keine Daten für Gruppe B vor. Der Mittelwert für IL-10 in der Gruppe A lag präoperativ bei 14,6 pg/ml  $\pm$ 11,5 pg/ml (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung), am 1. POD bei 55,9 pg/ml  $\pm$ 45,3 pg/ml, am 3. POD bei 25,7 pg/ml  $\pm$ 29,9 pg/ml und am 5. POD bei 18 pg/ml  $\pm$ 9,8 pg/ml. Gruppe B zeigte präoperativ einen Mittelwert von 10,5 pg/ml  $\pm$ 6,5 pg/ml, am 1. POD von 14,9 pg/ml  $\pm$ 9 pg/ml, am 3. POD von 10,8 pg/ml  $\pm$ 3,5 pg/ml und am 5. POD von 25,9 pg/ml  $\pm$ 26,2 pg/ml.

Es wurden keine statistisch signifikanten Unterschiede beim Vergleich der Gruppen festgestellt (s. Abb. 14).



**Abb. 14: Verlauf der Zytokine der Gruppen A und B**

(I) IL-6 (II) TNFα (III) IL-8 (IV) IL-10 Gruppe A: durchgezogene Linie mit Punkt;

Gruppe B: gestrichelte Linie mit Quadrat. Die Ergebnisse von IL-6, TNFα und IL-8 sind als

Median mit IQR (25./75. Perzentile) dargestellt. Die Ergebnisse für IL-10 sind als Mittelwert mit 95% Konfidenzintervall dargestellt. Die horizontal gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert an.

\*  $p \leq 0,05$

## 4. Diskussion

### 4.1 Dynamische und statische Leberfunktion

Die Entwicklung einer systemischen inflammatorischen Reaktion auf ein operatives Trauma ist ein bekanntes Phänomen. Der Einfluss eines SIRS auf die Leberfunktion ist mangels geeigneter diagnostischer Verfahren bisher nur unzureichend durch statische Leberfunktionstests untersucht (36, 37). Mit dem innovativen LiMAx-Test ist es erstmalig möglich, die Leberfunktion zu quantifizieren. Die vorliegende Studie sollte den Zusammenhang zwischen postoperativem SIRS und Leberfunktion, gemessen mit dem LiMAx-Test, untersuchen.

Das wichtigste Ergebnis der vorliegenden Studie ist, dass es bei 16 Patienten (64%) am ersten postoperativen Tag zu einem signifikanten Abfall der Leberfunktion unterhalb des Referenzwertes kam. Im weiteren Verlauf zeigte sich eine rasche Regeneration der Leberfunktion. Bereits ab dem 3. POD lagen nur noch 36%, ab dem 5. POD nur noch 8% und am 10. POD lediglich 2% der Werte unterhalb des Referenzbereiches. Diese Ergebnisse zeigen erstmalig eine passagere enzymatische Leberdysfunktion, die ursächlich als direkte Folge einer abdominalchirurgischen Operation und den damit verbundenen hämodynamischen und inflammatorischen Veränderungen aufgetreten ist. Aufgrund fehlender dynamischer Leberfunktionstests konnte diese postoperative Leberdysfunktion bisher nicht gemessen werden. Mit der vorliegenden Studie konnte außerdem gezeigt werden, dass der LiMAx-Test ein adäquater Parameter zur frühzeitigen Detektion des inflammatorischen Leberversagens ist.

Ähnliche Ergebnisse konnten auch bei septischen Patienten beobachtet werden. Kaffarnik et al. zeigten, dass es in der Sepsis nach einem primären Abfall der LiMAx-Werte zu einem Wiederanstieg in den Normalbereich bis zum 10. Tag kommen kann. Auch in dieser Studie basierte die Leberdysfunktion auf der Inflammation. Diese war aber durch eine bakterielle Sepsis getriggert und das Ausmaß des Leberversagens deutlich stärker (24).

Die ICG-PDR konnte in dem vorliegenden Patientenkollektiv keine Leberdysfunktion messen. Interessanterweise stiegen die Werte im Verlauf des postoperativen Zeitraums an, mit einem Maximum am 5. POD. Mittels des ICG-Tests kann primär eine Aussage über die Transportfunktion der Leber über das Gallengangsystem getroffen werden.



Halle et al. konnten in ihrer Studie zeigen, dass die ICG-Clearance aus dem Blut abhängig vom hepatischen Blutfluss, dem Funktionszustand der Hepatozyten und der biliären Exkretion ist (38). De Gasperi et al. beschrieben eine erhöhte ICG-PDR durch eine gesteigerte sinusoidale Perfusion als Folge einer systemischen Inflammationsreaktion (18). Die in der vorliegenden Studie gemessene erhöhte ICG-PDR könnte dementsprechend ebenfalls durch eine gesteigerte Durchblutung, basierend auf dem postoperativen SIRS, erklärt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die ICG-PDR stark von der Leberdurchblutung beeinflusst ist und in der vorliegenden Studie dem LiMAX-Test unterlegen war. Der auf dem enzymatischen Methacetin-Metabolismus basierende LiMAX-Test scheint weniger von der Durchblutung im Splanchnikusgebiet beeinflusst zu sein als die ICG-PDR. Diese Ungenauigkeit der ICG-PDR wurde auch von anderen Autoren beschrieben.

Stehr et al. untersuchten in ihrer experimentellen Arbeit den Zusammenhang zwischen der bettseitig gemessenen ICG-PDR und der tatsächlichen biliären ICG-Exkretion unter Stresssituationen wie bspw. einer Sepsis. Ihre Ergebnisse waren, dass die biliäre ICG-Exkretion 12 Stunden nach Induktion der Sepsis stark abfiel, während die ICG-PDR einen Anstieg zeigte. Verantwortlich dafür sollen komplexe Veränderungen in der ICG-Pharmakokinetik sowie eine temporäre Umverteilung des ICGs in extrahepatische Gewebe sein. Hauptergebnis dieser Studie war es, dass die ICG-PDR nicht die Reduktion der biliären ICG-Exkretion während der hyperdynamen Phase der Sepsis abbilden konnte. Somit kamen Stehr et al. zu dem Schluss, dass die ICG-PDR kein verlässlicher Parameter zur Beurteilung der Leberfunktion in akuten Entzündungssituationen sei und dass normale ICG-Werte in diesem Rahmen mit Vorsicht zu beurteilen seien (39).

Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse von Sakka et al.. Ihre Resultate zeigten, dass die ICG-PDR zuverlässig die ICG-Clearance, gemessen anhand der absoluten ICG-Blutkonzentrationen, bei kritisch kranken Patienten widerspiegelt. Die nicht-invasiv zu messende ICG-PDR korrelierte dabei signifikant mit der Verschwinderate des ICGs aus dem Blut, sodass die Autoren die ICG-PDR als suffizienten Surrogatparameter der Leberfunktion bei kritisch kranken Patienten ansehen (40). Der Fokus dieser Studie lag darauf, zu belegen, dass die ICG-PDR die tatsächliche ICG-Exkretion im Blut korrekt abbildet. Es wurden keine Aussagen über die Kinetik der ICG-PDR im Rahmen schwerer Erkrankung getroffen, sodass unklar bleibt, ob die ICG-PDR in diesem Setting überhaupt eine Leberdysfunktion angezeigt hat. In der vorliegenden

Studie konnte die ICG-PDR keine Leberdysfunktion detektieren, während die LiMax-Werte einen passageren Abfall der Leberfunktion am 1. POD anzeigten.

In verschiedenen Studien wurden die klassischen statischen Leberparameter als Marker für eine Leberdysfunktion untersucht. Das Serum-Bilirubin (Exkretionsleistung), die INR (Syntheseleistung) und die Transaminasen (Leberzellschädigung) sind die am häufigsten verwendeten Parameter zur Beurteilung der Leberfunktion. Als Folge von großen abdominalchirurgischen Operationen kann es zu einer Erhöhung dieser Leberparameter kommen. Der Anstieg ist meist vorübergehend und die Leberparameter kehren innerhalb weniger Tage wieder in den Normalbereich zurück (16, 17, 36, 41).

In der vorliegenden Studie konnte nur ein Anstieg der Transaminasen beobachtet werden. Bilirubin zeigte zwar einen signifikanten Anstieg, die Werte blieben aber im gesamten Beobachtungszeitraum im Normbereich. Diese Ergebnisse unterstützen die Theorie von Lescot et al., die das Serum-Bilirubin als einen späten Marker für Leberfunktionsstörungen sehen, welcher zum Teil auf normalem Niveau bleibt, während andere Leberparameter bereits abnorme Werte anzeigen (42). Bauer et al. weisen in ihrer Studie darauf hin, dass das Serum-Bilirubin den Grad der Leberdysfunktion bei Patienten mit inflammatorischem Krankheitsgeschehen unterschätzt (43). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstützen die Beobachtungen, dass Bilirubin ein inadäquater Marker zur Erfassung eines postoperativen Funktionsverlustes der Leber ist.

Die Transaminasen zeigten am 1. POD einen Anstieg um das ca. 3-fache vom präoperativen Ausgangsniveau und normalisierten sich ab dem 3. POD. Die in den Hepatozyten lokalisierten Transaminasen sind klassische Parameter zur Beurteilung eines Leberzellschadens. Infolge einer Leberzellschädigung erhöht sich die hepatozelluläre Permeabilität, wodurch die Transaminasen ins Plasma freigesetzt werden. Die ALT wird vorrangig in der Leber exprimiert, während die AST ubiquitär in verschiedenen Geweben, wie dem Skelettmuskel oder der Niere, vorkommt (42).

In der Literatur werden verschiedene Ursachen für den passageren postoperativen Anstieg der Leberenzyme beschrieben. Hauptgrund scheint, zumindest im Rahmen laparoskopischer Eingriffe, die Anlage eines Kapnoperitoneums zu sein (17, 37). Durch den gesteigerten intraabdominellen Druck wird der portale Blutfluss vermindert, wodurch es zu einer Zellschädigung der Hepatozyten kommt. Weiterhin werden die

operative Manipulation sowie der Einsatz von Elektrokauterisation als mögliche Gründe genannt (37). Die Autoren der meisten Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die transiente Erhöhung der Transaminasen allenfalls als mild bzw. moderat zu bewerten sei und dass ihre Erhöhung nicht in Zusammenhang mit einer klinisch relevanten Leberfunktionseinschränkung steht (16, 17). Lescot et al. sehen die Aussagekraft der Transaminasen in Bezug auf eine Leberfunktionsstörung kritisch, da ein massiver Transaminasenanstieg nicht adäquat mit einem Leberversagen korreliert, gleichzeitig aber eine Leberdysfunktion auch bei nur gering erhöhten Leberenzymen vorliegen kann (42). Letztere Aussage kann von der vorliegenden Studie bestätigt werden. Es zeigte sich postoperativ ein milder Transaminasenanstieg als Reaktion auf das operative Trauma. Bei gleichzeitig erniedrigten LiMax-Werten kann dieser moderate Anstieg als passagere Leberdysfunktion gewertet werden.

Die INR gibt Auskunft über die Aktivität des extrinsischen Gerinnungssystems und gilt als Surrogatparameter für die Syntheseleistung der Leber. Im Rahmen einer Leberdysfunktion kann es zu einer Abnahme der Synthese von Gerinnungsfaktoren kommen, welche eine Steigerung der INR zur Folge hat. Allerdings kann eine erhöhte INR auch durch zahlreiche andere Ursachen bedingt sein. Dazu gehören beispielsweise ein erworbener oder medikamenteninduzierter Vitamin-K-Mangel, Verdünnungseffekte infolge übermäßiger Volumentherapie oder eine Verbrauchskoagulopathie (42). Während Lescot et al. die INR als zu unspezifischen Marker zur Detektion einer Leberdysfunktion beschreiben, stellen Mochida et al. eine INR > 1,5 als Parameter für akutes Leberversagen heraus (9, 42).

In dem vorliegenden Patientenkollektiv konnte am 1. POD eine Erhöhung der INR knapp über den Referenzbereich beobachtet werden. Ob diese gering erhöhten Werte auf einer Leberdysfunktion basieren, kann nicht eindeutig belegt werden. Zu berücksichtigen ist ein möglicher Verdünnungseffekt. In dem vorliegenden Patientenkollektiv lag die durchschnittliche intraoperative Volumenzufuhr von kristalloiden Lösungen bei 3500 ml. Barak et al. konnten bei Patienten nach abdominalchirurgischen Eingriffen einen positiven Zusammenhang zwischen der Infusionsmenge und einer INR-Erhöhung feststellen. Es zeigte sich, dass Patienten mit einer positiven Flüssigkeitsbilanz von über 1000 ml im Vergleich zu Patienten mit restriktiverem Flüssigkeitsmanagement signifikant höhere INR-Werte aufwiesen (44).

## 4.2 Entzündungsparameter

Große operative Eingriffe können zu einer generalisierten Inflammationsreaktion (Systemic Inflammatory Response Syndrome, SIRS) führen. Ausgelöst wird diese durch eine Aktivierung des humoralen (Komplement- und Gerinnungsfaktoren) sowie zellulären Immunsystems (Leukozyten, neutrophile Granulozyten, Makrophagen) und führt zu einer verstärkten Synthese, Expression und Freisetzung inflammatorischer Mediatoren (7, 45, 46). In aller Regel handelt es sich um eine zeitlich begrenzte proinflammatorische Reaktion, die durch die Ausschüttung antiinflammatorischer Mediatoren beendet wird. (8). Stellt sich diese Balance nicht ein, führt die andauernde proinflammatorische Reaktion zu einem erhöhten Risiko für septische Komplikationen und Organdysfunktionen. Risikofaktoren für die Entwicklung dieser Dysbalance sind unter anderem operativ ausgedehnte und zeitlich lang andauernde Operationen (8, 45). Die Definition des SIRS beruht hauptsächlich auf klinischen Kriterien (Temperatur, Atemfrequenz und Herzfrequenz). Einziger paraklinischer Parameter ist die Leukozytose oder Leukopenie (31). Daneben werden weitere unspezifische Parameter zur Diagnose eines inflammatorischen Geschehens verwendet (CRP, IL-6).

In der vorliegenden Studie zeigten die Leukozyten am 1. POD einen diskreten, aber signifikanten Anstieg oberhalb der Norm. Ein Abfall der Werte in den Normalbereich war bereits ab dem 3. POD zu beobachten. Das CRP zeigte ebenfalls einen signifikanten Anstieg am 1. POD und erreichte sein Maximum am 3. POD. Die Werte fielen im weiteren Verlauf, blieben aber bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes auf erhöhtem Niveau. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit anderen Studien, bei denen erhöhte Leukozyten als unspezifischer Marker für eine Inflammation beschrieben wurden. Die Autoren wiesen darauf hin, dass das CRP besser zur Detektion eines postoperativen Inflammationsgeschehens geeignet war (47, 48). Das CRP ist ein sehr gut untersuchter Parameter im Rahmen operativer Eingriffe. Die vorliegende sowie weitere Studien konnten zeigen, dass die maximale CRP-Konzentration 24-72 Stunden nach dem operativen Eingriff erreicht wird (49). Begründet wird dieser verzögerte Anstieg damit, dass die CRP-Synthese im Rahmen der Akute-Phase-Reaktion erst durch proinflammatorische Zytokine initiiert werden muss (50, 51).

Wie zuvor bereits beschrieben wird das SIRS durch die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine verursacht. Als wichtigste Mediatoren der Inflammation mit Ausbildung eines SIRS nach einer Operation werden das TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6 gesehen (50).

Insbesondere das TNF $\alpha$  ist ein sehr potenter und früher proinflammatorischer Marker der Zytokinkaskade, welcher in der Pathogenese des SIRS nach Trauma eine essentielle Rolle einnimmt (7). Zusammen mit IL-1 $\beta$  ist das TNF $\alpha$  verantwortlich für die primäre, nicht-hepatische Immunantwort, mit Induktion von Fieber, Tachykardie, erhöhten Prostaglandinspiegeln und beschleunigtem Katabolismus (50). Weiterhin leitet es die Synthese von sekundären Zytokinen wie IL-6 und IL-8 ein und hat somit auch einen wesentlichen Anteil an der hepatischen Akute-Phase-Reaktion des Organismus. (7, 50).

In dem hier untersuchten Patientenkollektiv konnte keine signifikante Änderung des TNF $\alpha$ -Plasmaspiegels beobachtet werden. Die Spiegel lagen zu jedem Zeitpunkt oberhalb des angegebenen Referenzbereiches ohne wesentliche Kinetik. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Kvarnström et al. und Baigrie et al., die in ihren Studien über die Dynamik der Zytokine nach abdominalchirurgischen Eingriffen ebenfalls keine Konzentrationsanstiege für TNF $\alpha$  detektieren konnten (46, 50). Diese Ergebnisse stehen zwar im Gegensatz zu der zuvor beschriebenen zentralen Rolle des TNF $\alpha$  in der Pathophysiologie des postoperativen SIRS, sind aber prinzipiell durch die relativ kurze Halbwertszeit von unter 20 Minuten erklärbar (15). In der Literatur finden sich erhöhte TNF $\alpha$ -Plasmakonzentrationen, die in Assoziation mit einer Organdysfunktion stehen, hauptsächlich bei polytraumatisierten (52) und septischen Patienten (53).

TNF $\alpha$  ist an der Aktivierung verschiedener, zum Teil gegensätzlicher Signalwege beteiligt. Dazu zählen die Stimulation inflammatorischer Prozesse sowie die Induktion von Zellproliferation und Apoptose (54). Streetz et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass das TNF $\alpha$ - und TNF $\alpha$ -Rezeptor-System in der Pathogenese des akuten Leberversagens eine entscheidende Rolle spielt. Sie beschrieben massiv erhöhte TNF $\alpha$ -Serumkonzentrationen bei Patienten mit fulminantem Leberversagen und konnten eine signifikante Korrelation zwischen der TNF $\alpha$ -Expression und der Akkumulation apoptotischer Hepatozyten beobachten. Die Autoren schlossen daraus, dass TNF $\alpha$  durch Induktion apoptotischer Signalwege einen direkt zytotoxischen Effekt auf die Hepatozyten hat (55).

Obwohl es in dem untersuchten Patientenkollektiv zu einer vergleichsweise milden Zytokin- bzw. TNF $\alpha$ -Expression infolge des operativen Traumas gekommen ist, konnte mittels des LiMAX-Tests eine Leberdysfunktion am 1. POD detektiert werden. Diese könnte auf die zytotoxischen Effekte des TNF $\alpha$  auf die Hepatozyten zurückzuführen sein. TNF $\alpha$  hat die Fähigkeit, den inflammatorischen Prozess zu verstärken, indem es die Transkription proinflammatorischer Gene induziert. Diese kodieren wiederum für Chemokine, Adhäsionsmoleküle, weitere Zytokine und Sauerstoffradikale bzw. Stickoxide. Diese Moleküle fördern die Extravasation neutrophiler Granulozyten in das Leberparenchym, wodurch ein Leberzellschaden entsteht (10, 56).

In der vorliegenden Studie konnte ein signifikanter Anstieg des IL-6 am 1. POD beobachtet werden. Im weiteren Verlauf waren die Plasmakonzentrationen kontinuierlich rückläufig, blieben jedoch bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes auf einem über dem Referenzwert erhöhten Niveau. Der postoperative Anstieg des IL-6 wurde in zahlreichen Studien beschrieben (15, 49, 50, 57). Die höchsten Werte bei postoperativen Patienten werden nach 4-48 Stunden beobachtet. Der IL-6-Peak am 1. POD in der vorliegenden Studie konnte diese Beobachtungen bestätigen. Menger und Vollmer beschrieben einen Zusammenhang zwischen der Höhe der IL-6-Plasmakonzentrationen und der OP-Dauer sowie dem Ausmaß des Gewebetraumas (15). Jawa et al. kamen zu dem Schluss, dass es bei chirurgischen Patienten einen Zusammenhang zwischen der Höhe der IL-6 Plasmakonzentrationen und einem ungünstigen Outcome, einer erhöhten Rate von Organdysfunktionen und einer erhöhten Mortalität geben könnte (58).

Das IL-6 hat eine Vielzahl proinflammatorischer Eigenschaften. Dazu gehört unter anderem die vermehrte Differenzierung zytotoxischer T-Zellen und die Verhinderung der Apoptose neutrophiler Granulozyten, wodurch sich deren potenziell gewebeschädigender Effekt verlängern kann. Zytotoxische Killerzellen sind eine Lymphozytenpopulation mit potenter phagolytischer Aktivität. Sie produzieren eine große Menge an INF $\gamma$ , modulieren die T-Zell-Antwort in der Leber und können zusätzlich direkt Apoptose oder Lyse in den Hepatozyten initiieren (59). Des Weiteren ist IL-6 einer der stärksten Induktoren für die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber (7). Wie auch das TNF $\alpha$  unterstützt IL-6 die Migration aktivierter Leukozyten in das Leberparenchym, wodurch es zum Untergang von Hepatozyten kommen kann

(56). Die erniedrigten LiMAx-Werte und erhöhten Transaminasen am 1. POD der vorliegenden Studie können diesen zytokininduzierten Leberzellschaden bestätigen.

Neben dem IL-6 gilt IL-8 als wichtiges Zytokin in der Entwicklung eines postoperativen SIRS. IL-8 wird auf Grund seiner chemotaktischen Wirkung auf neutrophile Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten eher der Familie der Chemokine zugeordnet. IL-8 ist wesentlich daran beteiligt, dass diese Zellen ins Gewebe wandern. Dort wird die Synthese verschiedener Enzyme und gewebeschädigender Substanzen (Proteasen, Superoxide, u. a.) stimuliert, sodass ein lokaler Gewebeschaden entsteht (7, 60). Bei chronischen Lebererkrankungen wurden erhöhte IL-8 Konzentrationen beschrieben. Das Chemokin scheint hier ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung einer Leberfibrose zu sein (59). Auch bei postoperativen Patienten wurde ein signifikanter Anstieg des IL-8 beobachtet (61). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnte in der vorliegenden Studie zwar ein signifikanter Anstieg des IL-8 am 1. POD beobachtet werden, jedoch lag dieser Wert innerhalb des Referenzbereiches von <4,5 pg/ml.

Der mögliche Einfluss der Zytokine auf die Leberfunktion zeigte sich dennoch am 1. POD durch einen erniedrigten LiMAx-Wert. Es ist wahrscheinlich, dass die zytokinvermittelte Aktivierung und Rekrutierung von Immunzellen in die hepatische Mikrozirkulation zu einer sinusoidalen Minderperfusion mit Entstehung einer Leberdysfunktion geführt hat. Weiterhin kann es durch die Produktion von Sauerstoffradikalen und proteolytischen Enzymen zu einem Gewebeschaden mit Beeinträchtigung der Leberleistung gekommen sein (59, 62).

Parallel zum SIRS reagiert der Organismus mit einer kompensatorisch antiinflammatorischen Antwort (CARS) (63). IL-6 besitzt neben seiner starken proinflammatorischen Potenz auch antiinflammatorische Wirkmechanismen. Dazu zählt die Induktion des potenten antiinflammatorischen Zytokins IL-10, aber auch die direkte Inhibition der TNF $\alpha$ -Expression (15). IL-10 hat eine inhibierende Wirkung auf die Synthese proinflammatorischer Zytokine (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8) und induziert zusätzlich die Freisetzung des löslichen TNF-Rezeptors, was zu einer zügigen Inaktivierung des TNF $\alpha$  führt (64). Möglicherweise ist dieser Umstand ein weiterer Faktor für die in der vorliegenden Studie niedrigen TNF $\alpha$ -Konzentrationen.

Kato et al. konnten erstmals ein gemeinsames Ansteigen pro- und antiinflammatorischer Zytokine während und nach größeren Bauchoperationen beschreiben (64). Die Analyse der vorliegenden Daten zeigte einen, wenn auch nicht signifikanten, Anstieg der IL-10 Werte am 1. POD und einen Abfall ab dem 3. POD.

Die Bedeutung erhöhter postoperativer IL-10 Werte ist uneinheitlich. Neben den positiven antiinflammatorischen Eigenschaften, die die lokale und systemische Entzündungsreaktion begrenzen, wird auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der IL-10 Spiegel und dem Auftreten postoperativer Komplikationen, wie Sepsis und Organversagen, beschrieben (7, 15). Dies scheint maßgeblich an einer Verschiebung der Homöostase in Richtung Immunsuppression zu liegen (15). In dem vorliegenden Patientenkollektiv scheint eine adäquate antiinflammatorische Gegenreaktion vorzuliegen. Der Anstieg des IL-10 als natürlicher Gegenspieler der Inflammation scheint eine überschießende Immunreaktion und deren potentiell negativen Effekt auf Organsysteme verhindert zu haben. Dies zeigt sich zum einen durch abnehmende Zytokin-Plasmakonzentrationen und zum anderen durch das erneute Ansteigen der Leberfunktion ab dem 3. POD.

#### **4.2 Zusammenhang zwischen LiMAx und Höhe der Zytokinspiegel**

Ziel dieser Studie war es, einen Zusammenhang zwischen der Höhe der Zytokinspiegel und dem Abfallen der LiMAx-Werte im Rahmen eines postoperativen SIRS festzustellen. Die Korrelationsanalyse lieferte keine statistisch signifikanten Ergebnisse. Die erhobenen Daten ließen aber erkennen, dass es eine tendenziell gegenläufige Beziehung zwischen der Leberfunktion und dem IL-6 am 1., 3. und 5. postoperativen Tag gab. Der Trend zeigte, dass eine ansteigende Inflammation in Zusammenhang mit erniedrigten LiMAx-Werten stand und dass sich die LiMAx-Werte bei sinkenden IL-6-Konzentrationen verbesserten.

Die Leber spielt eine Schlüsselrolle in der Regulation der metabolischen und immunologischen Homöostase. Veränderungen in ihrer Funktion können die Entstehung von multiplen Organdysfunktionen fördern (43). Einige Untersuchungen konnten zeigen, dass Immunzellen und Zytokine sowie deren induzierte Signalwege die Entstehung von Leberversagen, chronischen Lebererkrankungen, hepatischer Inflammation und Leberfibrose begünstigen (59). Kupferzellen und leberinfiltrierende Monozyten sind Hauptsyntheseorte der hepatischen Zytokinproduktion und unterhalten



die Inflammation. Die Aktivierung inflammatorischer Signalwege hat aber nicht zwingend einen negativen Einfluss auf den Organismus. Entscheidend ist das Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischer Reaktion. Dysregulierte Zytokinantworten können zu einer exzessiven Apoptoseinduktion führen und ein Leberversagen triggern (59). Kaffarnik et al., welche die Korrelation von septischem Leberversagen und den proinflammatorischen Zytokinen TNF $\alpha$  und IL-6 untersuchten, beschrieben einen signifikanten Zusammenhang zwischen hohen Zytokinwerten und niedrigen LiMAX-Werten (53). Gleichzeitig sind Zytokine aber auch an sogenannten Überlebens-Signalkaskaden mit Induktion von Zelldifferenzierung und Proliferation beteiligt, wodurch sie zur Regeneration des Leberparenchyms beitragen (59, 65).

Die Ergebnisse der LiMAX-Messungen der vorliegenden Studie demonstrieren diesen dualen Einfluss der Zytokine. Es zeigte sich eine Abnahme der Leberfunktion bei maximaler Plasmakonzentration der proinflammatorischen Zytokine am 1. POD. Während im weiteren postoperativen Verlauf die Inflamationsparameter rückgängig waren, aber auf erhöhtem Niveau blieben, regenerierte sich die Leberfunktion bereits ab dem 3. POD. Dies unterstützt die Aussage von Streetz et al., dass der regenerierende Effekt der Zytokine von ihrer Konzentration abhängig ist (65).

Die vorliegende Studie zeigt, dass einem operativen Trauma eine stärkere Zytokinausschüttung folgt, diese aber nicht zu einer dysregulierten Immunantwort führt. Das Gleichgewicht pro- und antiinflammatorischer Mediatoren wird schnell wiederhergestellt. Nur am 1. POD deutete die passagere Leberdysfunktion auf einen möglichen gewebeschädigenden Effekt der Zytokine hin.

### **4.3 Leberfunktion und SIRS**

Die Entwicklung eines SIRS nach operativen Eingriffen ist sehr häufig. Das SIRS ist die immunologische Antwort des Körpers auf ein Trauma unterschiedlicher Genese, welches ohne eine ursächliche Infektion auftritt. Andere Autoren berichteten, dass ein SIRS zu einer Beeinträchtigung verschiedener Organsysteme führen kann, welche das Auftreten von Sepsis und Organdysfunktionen begünstigt (1, 66). In der vorliegenden Studie erfüllten 38% der Patienten am 1. POD mindestens 2 SIRS-Kriterien. Die als SIRS klassifizierten Patienten zeigten alle eine erhöhte Herzfrequenz und Leukozytenzahl. Bereits ab dem 3. POD erfüllte keiner der untersuchten Patienten mehr die SIRS-Kriterien. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Studien, bei

denen die Mehrheit der Patienten ein postoperatives SIRS innerhalb von 24-48 Stunden entwickelte (1, 57).

In der vorliegenden Studie wurden zur Untersuchung der Fragestellung, ob Patienten mit einem SIRS postoperativ eine stärkere Inflammationsreaktion und eine verminderte Leberfunktion aufweisen, die Gruppenanalysen durchgeführt.

Der postoperative Verlauf der LiMAx-Werte gestaltete sich nahezu gleichsinnig in beiden Gruppen. Der tendenziell stärkere Abfall der Leberfunktion in der SIRS-Gruppe wies keine statistische Signifikanz auf. Interessanterweise zeigte sich am 3. POD eine signifikant raschere Regeneration der Leberfunktion in der SIRS-Gruppe, die nicht systematisch zu erklären ist.

Die Auswertung der ICG-PDR ergab signifikant höhere Werte am 1., 3. und 10. POD in der SIRS-Gruppe. Diese Ergebnisse bestätigen die Abhängigkeit des ICG-Tests von der Leberdurchblutung und den damit verbundenen falsch-hohen Werten im Rahmen einer hyperdynamen Kreislaufsituation, wie sie bei der Entwicklung eines SIRS zu erwarten ist (39). Die Auswertung der statischen Leberparameter zeigte keine signifikanten Unterschiede in den Gruppen. Allerdings war eine tendenziell höhere Transaminasenkonzentration am 1. POD bei den SIRS-klassifizierten Patienten zu beobachten.

In Bezug auf die Entzündungsparameter wurde die Hypothese aufgestellt, dass Patienten mit SIRS höhere Plasmakonzentrationen entwickeln würden als Patienten ohne SIRS. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten aber, dass es sowohl für die inflammationsspezifischen Zytokine, als auch für das CRP keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen im postoperativen Verlauf gab. Bei den Patienten ohne SIRS lag das Niveau für IL-6, IL-10 und CRP sogar tendenziell höher. Lediglich für die Leukozytenzahl, als eines der SIRS Kriterien, ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied am 1. POD. Diese Resultate sind vergleichbar mit den Beobachtungen von Sarbinowski et al.. Sie konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen der SIRS- und Nicht-SIRS-Gruppe bezüglich postoperativer IL-6- und CRP-Konzentrationen sowie Leukozytenzahlen feststellen. Die Autoren gaben eine schwache Zytokininduktion und den größeren Einfluss proximaler proinflammatorischer Zytokine wie TNF $\alpha$  und IL-1 $\beta$  als mögliche Erklärung an (67). Diesen Ansatz kann die vorliegende Studie nicht bestätigen, da zumindest die TNF $\alpha$ -Konzentrationen nicht wesentlich erhöht waren.

Im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen konnten Miyaoka et al. einen signifikanten Unterschied zwischen der SIRS- und der Nicht-SIRS-Gruppe, bezüglich

der IL-6, IL-10 und CRP-Konzentrationen feststellen. Ihre Resultate führten zu dem Schluss, dass die Bestimmung der IL-6-Konzentration sowie des IL-6/IL-10-Verhältnisses geeignet ist, um die Schwere des SIRS und damit das postoperative Outcome vorherzusagen (57). Eine weitere Studie stellte das IL-6 als geeigneten Biomarker zur Detektion eines SIRS, bevor klinische Symptome wie Fieber oder Tachykardie auftreten, heraus. Sie konnten zeigen, dass Patienten mit einem starken IL-6-Anstieg wenige Stunden nach der OP stärker gefährdet waren, ein SIRS zu entwickeln (2). Haga et al. beobachteten, dass die Entwicklung eines postoperativen SIRS mit der Länge des Eingriffes und dem Blutverlust korreliert. Weiterhin konnten sie zeigen, dass Patienten, die die SIRS Kriterien über den dritten postoperativen Tag hinaus erfüllten, ein erhöhtes Risiko für Sepsis oder MODS hatten. Aufgrund dessen beschrieben sie die SIRS-Klassifikation als zuverlässiges Instrument zur Detektion postoperativer Endorganschäden (68). Im Gegensatz dazu stehen die Daten der vorliegenden Studie. Bei den SIRS-klassifizierten Patienten war weder eine verlängerte Operationszeit, noch ein stärkerer intraoperativer Blutverlust im Vergleich zu der Nicht-SIRS-Gruppe zu beobachten. Weiterhin zeigte sich, dass die Erfüllung der SIRS Kriterien keinen Einfluss auf die Schwere der passageren Leberdysfunktion sowie die Höhe der Zytokinkonzentrationen zu haben scheint. Die geringe Spezifität der SIRS Einteilung bezüglich prognostischer Wertigkeit wird auch von vielen anderen Autoren kritisch gesehen (1, 67, 69).

#### **4.4 Limitationen**

Eine Einschränkung der vorliegenden Studie ist die relativ kleine Patientenzahl. Die Studie war als Pilotstudie zur erstmaligen Untersuchung dieser Fragestellung gedacht und es benötigt größere randomisierte Untersuchungen zur Validierung der Ergebnisse. Des Weiteren gibt es Schwächen im Datensatz, da dieser nicht für alle Patienten vollständig war. Vor allem der ICG-Test war störanfällig. In 3 Fällen konnte wegen eines Signalverlustes die ICG-PDR, höchstwahrscheinlich im Rahmen schlechter peripherer Durchblutung, nicht bestimmt werden. Auch für den LiMAX ergab sich einmalig eine technische Störung. Mit der Gewinnung der Blutproben für die Zytokine wurde aus organisatorischen Gründen erst ab dem 5. Patienten begonnen, sodass hier insgesamt nur 21 Patienten ausgewertet werden konnten. Infolge der niedrigen Zytokinkonzentrationen in den Blutproben waren für mehrere Proben keine messbaren Werte mit den ELISA Kits detektierbar. Dies führte zu einer erheblichen Reduktion, v. a. beim Interleukin 10, von auswertbaren Messergebnissen. Zumindest für das TNF $\alpha$  als ein Mediator mit sehr kurzer Halbwertszeit hätte hier eine frühzeitigere Probenentnahme vermutlich bessere Ergebnisse erbracht.

## 5. Schlussfolgerungen

Die immunologische und metabolische Reaktion des Körpers auf eine Operation ist meist kurzlebig und dauert i. d. R. nicht länger als 24-48 Stunden an (70). Die Höhe der Zytokinspiegel hängt von der Schwere des Traumas bzw. der Länge des operativen Eingriffes ab (15, 61). In der vorliegenden Studie hatte das OP-Trauma keinen ausreichenden Einfluss, um einen relevanten Anstieg der Zytokine zu verursachen. Dennoch konnte eine verminderte enzymatische Leberfunktion mittels LiMax-Test nachgewiesen werden. Dies ist auch das Hauptergebnis der Studie.

Die Routine-Laborparameter wie Bilirubin, INR, ALT und AST sind zum Teil gut geeignet, um eine partielle Leberdysfunktion zu erkennen, haben aber ihre Limitationen bezüglich der Evaluation der globalen Leberfunktion (42). Der LiMax-Test wurde schon in unterschiedlichen Situationen eingesetzt und konnte zeigen, dass er in vielen Fragestellungen, wie beispielsweise Transplantation, Sepsis oder beim akuten Leberversagen, sensitiver ist als alternative Tests (21, 24, 71). Diese Beobachtungen werden auch von dieser Studie unterstützt.

Die klinische Bedeutung einer transienten postoperativen Leberdysfunktion bleibt unklar, da lebergesunde Patienten diesen Zustand scheinbar gut kompensieren können. Eine Schlussfolgerung könnte sein, potentiell leberschädigende Substanzen bei diesen Patienten zu vermeiden bzw. deren Dosierung anzupassen.

Interessant wäre eine Untersuchung der Pharmakokinetik von primär hepatisch metabolisierten Medikamenten in diesem Patientenkollektiv.

Der Fokus weiterführender Studien sollte auf Patienten mit bereits vorgeschädigter Leberfunktion liegen. Bei diesen Patienten könnte eine perioperative passagere Leberdysfunktion zu einer weiteren Verschlechterung der vorbestehenden Leberschädigung führen. Der LiMax-Test könnte in diesem Rahmen gezielt zur Untersuchung dieser klinischen Fragestellung eingesetzt werden.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Pittet D, Rangel-Frausto S, Li N, Tarara D, Costigan M, Rempe L, Jebson P, Wenzel RP. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, severe sepsis and septic shock: incidence, morbidities and outcomes in surgical ICU patients. *Intensive care medicine*. 1995;21(4):302-9.
2. Fink-Neuboeck N, Lindenmann J, Bajric S, Maier A, Riedl R, Weinberg AM, Smolle-Juettner FM. Clinical impact of interleukin 6 as a predictive biomarker in the early diagnosis of postoperative systemic inflammatory response syndrome after major thoracic surgery: A prospective clinical trial. *Surgery*. 2016;160(2):443-53.
3. Guisasola MC, Ortiz A, Chana F, Alonso B, Vaquero J. Early inflammatory response in polytraumatized patients: Cytokines and heat shock proteins. A pilot study. *Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR*. 2015;101(5):607-11.
4. D'Journo XB, Michelet P, Marin V, Diesnis I, Blayac D, Doddoli C, Bongrand P, Thomas PA. An early inflammatory response to oesophagectomy predicts the occurrence of pulmonary complications. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2010;37(5):1144-51.
5. Frick VO, Justinger, C., Rubie, C., Graeber, S., Schilling, M.K., & Lindemann, W. Thoracotomy procedures effect cytokine levels after thoracoabdominal esophagectomy. *Oncology Reports*, 27, 258-264. 2012.
6. Bone RC. Immunologic dissonance: a continuing evolution in our understanding of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and the multiple organ dysfunction syndrome (MODS). *Annals of internal medicine*. 1996;125(8):680-7.
7. Hildebrand F, Pape HC, Krettek C. [The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction]. *Der Unfallchirurg*. 2005;108(10):793-4, 6-803.
8. Toft P, Tønnesen E. The systemic inflammatory response to anaesthesia and surgery. *Current Anaesthesia & Critical Care*. 2008;19(5):349-53.
9. Mochida S, Takikawa Y, Nakayama N, Oketani M, Naiki T, Yamagishi Y, Ichida T, Tsubouchi H. Diagnostic criteria of acute liver failure: A report by the Intractable Hepato-Biliary Diseases Study Group of Japan. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2011;41(9):805-12.
10. Lacour S, Gautier JC, Pallardy M, Roberts R. Cytokines as potential biomarkers of liver toxicity. *Cancer biomarkers : section A of Disease markers*. 2005;1(1):29-39.
11. Ni Choileain N, Redmond H. Cell response to surgery. *Archives of Surgery*. 2006;141(11):1132-40.
12. Strassburg CP. Shock liver. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2003;17(3):369-81.
13. Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A. Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clinical science (London, England : 1979)*. 1990;79(2):161-5.
14. Mokart D, Capo C, Blache JL, Delpero JR, Houvenaeghel G, Martin C, Mege JL. Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer. *The British journal of surgery*. 2002;89(11):1450-6.
15. Menger MD, Vollmar B. Surgical trauma: hyperinflammation versus immunosuppression? *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*. 2004;389(6):475-84.
16. Ahmad NZ. Routine Testing of Liver Function Before and After Elective Laparoscopic Cholecystectomy: Is It Necessary? *JLS : Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2011;15(1):65-9.

17. Singal R, Singal RP, Sandhu K, Singh B, Bhatia G, Khatri A, Sharma BP. Evaluation and comparison of postoperative levels of serum bilirubin, serum transaminases and alkaline phosphatase in laparoscopic cholecystectomy versus open cholecystectomy. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2015;6(5):479-86.
18. De Gasperi A, Mazza E, Prosperi M. Indocyanine green kinetics to assess liver function: Ready for a clinical dynamic assessment in major liver surgery? *World journal of hepatology*. 2016;8(7):355-67.
19. Gonnert F, Bauer M, Kortgen A. [Current aspects of diagnostics of hepatic dysfunction in critically ill]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2012;137(43):2212-6.
20. Wlodzimirow KA, Eslami S, Abu-Hanna A, Nieuwoudt M, Chamuleau RA. Systematic review: acute liver failure - one disease, more than 40 definitions. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2012;35(11):1245-56.
21. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne K, Martus P, Fricke M, Lehmann S, Niehues SM, Schwabe M, Lemke AJ, Neuhaus P. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. *Annals of surgery*. 2009;250(1):119-25.
22. Garcea G, Ong SL, Maddern GJ. Predicting liver failure following major hepatectomy. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2009;41(11):798-806.
23. Lock JF, Schwabauer E, Martus P, Videv N, Pratschke J, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Early diagnosis of primary nonfunction and indication for reoperation after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2010;16(2):172-80.
24. Kaffarnik MF, Lock JF, Vetter H, Ahmadi N, Lojewski C, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Early diagnosis of sepsis-related hepatic dysfunction and its prognostic impact on survival: a prospective study with the LiMax test. *Critical care (London, England)*. 2013;17(5):R259.
25. Jara M, Bednarsch J, Valle E, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, Seehofer D, Jung T, Stockmann M. Reliable assessment of liver function using LiMax. *The Journal of surgical research*. 2015;193(1):184-9.
26. Paumgartner G. The handling of indocyanine green by the liver. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 1975;105(17 Suppl):1-30.
27. Olmedilla L, Pérez-Peña JM, Ripoll C, Garutti I, de Diego R, Salcedo M, Jiménez C, Bañares R. Early noninvasive measurement of the indocyanine green plasma disappearance rate accurately predicts early graft dysfunction and mortality after deceased donor liver transplantation. *Liver Transplantation*. 2009;15(10):1247-53.
28. Vos JJ, Wietasch JK, Absalom AR, Hendriks HG, Scheeren TW. Green light for liver function monitoring using indocyanine green? An overview of current clinical applications. *Anaesthesia*. 2014;69(12):1364-76.
29. Derpapas MK, Contis J, Fragulidis GP, Lykoudis PM, Polymeneas G, Ntourakis S, Voros D. Correlation of the ICG test with risk factors and postoperative outcomes following hepatic resection. *J BUON*. 2013;18(3):703-7.
30. Stockmann M. Wertigkeit eines neu entwickelten Verfahrens zur Bestimmung der Leberfunktion in der Leberchirurgie (LiMax-Test) [Berlin, Univ.-Medizin, Habil.-Schr., 2009]2009.
31. R&D Systems. Quantikine Colorimetric Sandwich ELISA Kit Assay Principle n.d. [30.01.2019]. Available from: <https://www.rndsystems.com/products/quantikine-colorimetric-sandwich-elisa-assay-principle>.

32. R&D Systems. Quantikine HS ELISA Kit Assay Principle, Alkaline Phosphatase n.d. [30.01.2019]. Available from: <https://www.rndsystems.com/resources/protocols/quantikine-hs-elisa-assay-principle>.
33. Invitrogen. Human IL-8 Ultrasensitive ELISA Kit 2017 [30.01.2019]. Available from: [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0014831\\_KHC0083\\_84\\_Hu\\_IL8US\\_ELISA\\_PI.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/MAN0014831_KHC0083_84_Hu_IL8US_ELISA_PI.pdf).
34. Göllmann L, Hübl R, Pulham S, Ritter S, Schon H, Schüffler K, Voß U, Vossen G. Zweidimensionale deskriptive Statistik – den Zusammenhang zwischen zwei Merkmalen beschreiben. *Mathematik für Ingenieure: Verstehen – Rechnen – Anwenden: Band 1: Vorkurs, Analysis in einer Variablen, Lineare Algebra, Statistik*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2017. p. 411-21.
35. Brun-Buisson C. The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive care medicine*. 2000;26 Suppl 1:S64-74.
36. Sabzi F, Faraji R. Liver Function Tests Following Open Cardiac Surgery. *J Cardiovasc Thorac Res*. 2015;7(2):49-54.
37. Tan M, Xu FF, Peng JS, Li DM, Chen LH, Lv BJ, Zhao ZX, Huang C, Zheng CX. Changes in the level of serum liver enzymes after laparoscopic surgery. *World journal of gastroenterology*. 2003;9(2):364-7.
38. Halle BM, Poulsen TD, Pedersen HP. Indocyanine green plasma disappearance rate as dynamic liver function test in critically ill patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2014;58(10):1214-9.
39. Stehr A, Ploner F, Traeger K, Theisen M, Zuelke C, Radermacher P, Matejovic M. Plasma disappearance of indocyanine green: a marker for excretory liver function? *Intensive care medicine*. 2005;31(12):1719-22.
40. Sakka SG, van Hout N. Relation between indocyanine green (ICG) plasma disappearance rate and ICG blood clearance in critically ill patients. *Intensive care medicine*. 2006;32(5):766-9.
41. Lee J-H, Park DJ, Kim H-H, Lee H-J, Yang H-K. Comparison of complications after laparoscopy-assisted distal gastrectomy and open distal gastrectomy for gastric cancer using the Clavien–Dindo classification. *Surgical endoscopy*. 2012;26(5):1287-95.
42. Lescot T, Karvellas C, Beaussier M, Magder S. Acquired liver injury in the intensive care unit. *Anesthesiology*. 2012;117(4):898-904.
43. Bauer M, Press AT, Trauner M. The liver in sepsis: patterns of response and injury. *Current opinion in critical care*. 2013;19(2):123-7.
44. Barak M, Jurim O, Tal R, Katz Y. Prolonged International Normalized Ratio Correlates with a Large Intravascular Fluid Balance After Major Abdominal Surgery. *Anesthesia & Analgesia*. 2006;103(2):448-52.
45. Yao YM, Redl H, Bahrami S, Schlag G. The inflammatory basis of trauma/shock-associated multiple organ failure. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al]*. 1998;47(5):201-10.
46. Kvarnstrom AL, Sarbinowski RT, Bengtson JP, Jacobsson LM, Bengtsson AL. Complement activation and interleukin response in major abdominal surgery. *Scandinavian journal of immunology*. 2012;75(5):510-6.
47. Ortega-Deballon P, Radais F, Facy O, d'Athis P, Masson D, Charles PE, Cheynel N, Favre J-P, Rat P. C-Reactive Protein Is an Early Predictor of Septic Complications After Elective Colorectal Surgery. *World Journal of Surgery*. 2010;34(4):808-14.
48. Santonocito C, De Loecker I, Donadello K, Moussa MD, Markowicz S, Gullo A, Vincent JL. C-reactive protein kinetics after major surgery. *Anesthesia and analgesia*. 2014;119(3):624-9.



49. Sido B, Teklote J-R, Hartel M, Friess H, Büchler MW. Inflammatory response after abdominal surgery. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*. 2004;18(3):439-54.
50. Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D, Dallman MJ, Morris PJ. Systemic cytokine response after major surgery. *The British journal of surgery*. 1992;79(8):757-60.
51. Kragbjerg P, Holmberg H, Vikerfors T. Serum concentrations of interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha, and C-reactive protein in patients undergoing major operations. *The European journal of surgery = Acta chirurgica*. 1995;161(1):17-22.
52. Svoboda P, Kantorova I, Ochmann J. Dynamics of interleukin 1, 2, and 6 and tumor necrosis factor alpha in multiple trauma patients. *The Journal of trauma*. 1994;36(3):336-40.
53. Kaffarnik MF, Ahmadi N, Lock JF, Wuensch T, Pratschke J, Stockmann M, Malinowski M. Correlation between plasma endothelin-1 levels and severity of septic liver failure quantified by maximal liver function capacity (LiMAx test). A prospective study. *PloS one*. 2017;12(5):e0178237.
54. Wang H, Czura CJ, Tracey KJ. CHAPTER 35 - Tumor necrosis factor A2 - Thomson, Angus W. In: Lotze MT, editor. *The Cytokine Handbook (Fourth Edition)*. London: Academic Press; 2003. p. 837-60.
55. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C. Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. *Gastroenterology*. 2000;119(2):446-60.
56. Streetz KL, Wüstefeld T, Klein C, Manns MP, Trautwein C. Mediators of inflammation and acute phase response in the liver. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2001;47(4):661-73.
57. Miyaoka K, Iwase M, Suzuki R, Kondo G, Watanabe H, Ito D, Nagumo M. Clinical Evaluation of Circulating Interleukin-6 and Interleukin-10 Levels after Surgery-induced Inflammation. *Journal of Surgical Research*. 2005;125(2):144-50.
58. Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care part II: clinical implications. *Journal of intensive care medicine*. 2011;26(2):73-87.
59. Baeck C, Tacke F. Balance of inflammatory pathways and interplay of immune cells in the liver during homeostasis and injury. *EXCLI journal*. 2014;13:67-81.
60. Dinarello CA, Gelfand JA, Wolff SM. Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome. *Jama*. 1993;269(14):1829-35.
61. Volpin G, Cohen M, Assaf M, Meir T, Katz R, Pollack S. Cytokine levels (IL-4, IL-6, IL-8 and TGFbeta) as potential biomarkers of systemic inflammatory response in trauma patients. *International orthopaedics*. 2014;38(6):1303-9.
62. Singer G, Stokes KY, Neil Granger D. Reactive oxygen and nitrogen species in sepsis-induced hepatic microvascular dysfunction. *Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society [et al]*. 2013;62(2):155-64.
63. Cavaillon JM, Adrie C, Fitting C, Adib-Conquy M. Reprogramming of circulatory cells in sepsis and SIRS. *Journal of endotoxin research*. 2005;11(5):311-20.
64. Kato M, Honda I, Suzuki H, Murakami M, Matsukawa S, Hashimoto Y. Interleukin-10 production during and after upper abdominal surgery. *Journal of clinical anesthesia*. 1998;10(3):184-8.
65. Streetz KL, Luedde T, Manns MP, Trautwein C. Interleukin 6 and liver regeneration. *Gut*. 2000;47(2):309-12.
66. Rodríguez-Gaspar M, Santolaria F, Jarque-López A, González-Reimers E, Milena A, de la Vega Ma-J, Rodríguez-Rodríguez E, Gómez-Sirvent J-L. PROGNOSTIC

VALUE OF CYTOKINES IN SIRS GENERAL MEDICAL PATIENTS. *Cytokine*. 2001;15(4):232-6.

67. Sarbinowski R, Arvidsson S, Tylman M, Öresland T, Bengtsson A. Plasma concentration of procalcitonin and systemic inflammatory response syndrome after colorectal surgery. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2005;49(2):191-6.

68. Haga Y, Beppu T, Doi K, Nozawa F, Mugita N, Ikei S, Ogawa M. Systemic inflammatory response syndrome and organ dysfunction following gastrointestinal surgery. *Critical care medicine*. 1997;25(12):1994-2000.

69. Churpek MM, Zdravcevic FJ, Winslow C, Howell MD, Edelson DP. Incidence and Prognostic Value of the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Organ Dysfunctions in Ward Patients. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2015;192(8):958-64.

70. Lennard TW, Shenton BK, Borzotta A, Donnelly PK, White M, Gerrie LM, Proud G, Taylor RM. The influence of surgical operations on components of the human immune system. *The British journal of surgery*. 1985;72(10):771-6.

71. Lock JF, Kotobi AN, Malinowski M, Schulz A, Jara M, Neuhaus P, Stockmann M. Predicting the prognosis in acute liver failure: results from a retrospective pilot study using the LiMAx test. *Ann Hepatol*. 2013;12(4):556-62.



## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Julia Liebich, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Messung der Leberfunktion nach großen abdominalchirurgischen Eingriffen mittels Maximal Liver Function Capacity Test (LiMAx-Test) in Korrelation mit dem Indocyaningrün Test (ICG-Test) und inflammationsspezifischen Zytokinen* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Julia Liebich hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

**Publikation 1:** Kaffarnik M, Stoeger G, Liebich J, Grieser C, Pratschke J, Stockmann M. *Liver Function, Quantified by LiMAX Test, After Major Abdominal Surgery. Comparison Between Open and Laparoscopic Approach.* World J Surg. 2018;42(2):557-66.

Beitrag im Einzelnen:

Studiendurchführung, Datenerhebung, Datenvalidierung, Mitarbeit an statistischer Auswertung

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

## **Lebenslauf**

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

## Publikationsliste

1. Kaffarnik M, Stoeger G, Liebich J, Grieser C, Pratschke J, Stockmann M. *Liver Function, Quantified by LiMAx Test, After Major Abdominal Surgery. Comparison Between Open and Laparoscopic Approach.* World J Surg. 2018;42(2):557-66.

## **Danksagung**

Ich bedanke mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Martin Stockmann für die Überlassung des Themas sowie Unterstützung bei Fragen und seine wertvollen Anregungen.

Ein besonderer Dank gilt meinem Zweitbetreuer Herrn Dr. med. Magnus Kaffarnik, der mir bei allen Problemen stets mit hilfreichem Rat zur Seite stand. Danke für die intensive, geduldige Betreuung und Förderung, durch die diese Arbeit entstehen konnte.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Kollegen der Workgroup for the liver, insbesondere bei Herrn Dr. rer. nat. Tilo Wunsch, für die Unterstützung bei den Labortests bedanken. Ein weiterer Dank geht an Gabriel Stöger. Es war mir eine große Freude mit ihm zusammen dieses Thema zu bearbeiten.

Zuletzt danke ich meiner lieben Familie, Vanessa und meinem Tobi für ihre Liebe und immerwährende Unterstützung.