

Aus der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie  
Charité – Campus Virchow Klinikum  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Hepatocyte Growth Factor-Serumspiegel  
als prognostischer Faktor für ein Leberversagen  
und den lebersagen-assoziierten Tod  
nach Leberteileresektion am Menschen

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Herrmann

aus Berlin

Datum der Promotion: 16.06.2018

## Inhaltsverzeichnis

Abstract Deutsch .....	5
Abstract Englisch .....	7
Abkürzungsverzeichnis.....	9
1 Einleitung.....	11
1.1 Leberfunktionskapazität nach Leberteilresektionen.....	11
1.1.1 Das postoperative Leberversagen.....	12
1.2 Bedeutung des Wachstumsfaktors HGF für die Leberregeneration .....	13
1.2.1 HGF.....	14
1.2.2.1 Struktur und Herkunft von HGF .....	14
1.2.2.2 Synthese und molekulare Wirkungsweise von HGF.....	16
1.2.2.4 Wirkungen von HGF an der Leber.....	18
1.2.2.5 Klinischer Nutzen von HGF am Menschen.....	19
2 Ziele der Dissertation.....	21
2.1 Fragestellungen der Dissertation.....	21
3 Methodik.....	23
3.1 Studiendesign und Studienzeitraum.....	23
3.1.1 Einteilung des postoperativen Outcomes .....	23
3.2 Patientenkollektiv .....	27
3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien .....	28
3.2.2 Ablauf des Studieneinschlusses.....	28
3.3 Ablauf der Datenerhebung .....	30
3.3.1 Studienprotokoll.....	30
3.4 Messverfahren.....	32
3.4.1 Bestimmung der Serumspiegel verschiedener Laborwerte .....	32
3.4.1.1 Bestimmung von HGF.....	32
3.4.2 Der LiMAx-Test .....	32
3.4.2.1 Die Durchführung des LiMAx-Tests .....	33
3.5 Statistik.....	36
4 Ergebnisse .....	38
4.1 Patientencharakteristika .....	38
4.2 Komplikationen/Morbidität .....	40
4.3 Mortalität.....	42

4.4	Prädiktiver Wert von HGF für Mortalität und Morbidität nach Leberteilresektion .....	43
4.4.1	Serumspiegel von HGF im Verlauf nach einer Leberteilresektion .....	43
4.4.2	Verlauf der Serumspiegel von HGF in Untergruppen des PHLF .....	44
4.4.2.1	PHLF-Einteilung nach 50-50-Kriterien.....	44
4.4.2.2	PHLF-Einteilung nach ISGLS in Untergruppen kein PHLF, PHLF Grad A, PHLF Grad B und PHLF Grad C .....	46
4.4.2.3	PHLF-Einteilung nach ISGLS in Untergruppen Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF und Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF.....	48
4.4.4	PHLF-Einteilung laut LiMax-Testergebnis am 1. POD.....	49
4.4.3	Verlauf der Serumspiegel von HGF in Abhängigkeit der Entwicklung eines Leberversagen-assoziierten Todes: Vergleich zwischen verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten .....	51
4.4.4	Univariate Analysen: Bedeutung des Wachstumsfaktors HGF im Vergleich zu anderen Parametern .....	53
4.4.5	Multivariate Analysen .....	55
4.4.6	ROC-Analysen und Cutoff-Werte für den HGF- Serumspiegel.....	57
5	Diskussion.....	60
5.1	Besteht Bedarf an besserem Monitoring nach einer Leberteilresektion?.....	60
5.1.1	Vor- und Nachteile benutzter Kriterien und Klassifikationen zur Einschätzung des postoperativen Outcomes .....	61
5.1.2	Antwort auf die Frage: Besteht ein Bedarf an einem besserem Monitoring nach einer Leberteilresektion? .....	67
5.2	Diskussion der Hauptergebnisse.....	68
5.2.1	Wachstumsfaktor HGF nach Leberteilresektion .....	68
5.2.1.1	HGF als prognostischer Faktor nach PHx am Menschen .....	68
5.2.1.2	Prognostischer Wert von HGF in der Literatur .....	73
5.3	Limitationen der Studie.....	77
5.4	Ausblick auf den klinischen Nutzen .....	81
6	Schlussfolgerung.....	83
7	Anhang.....	84
7.1	Durchführung: ELISA zur Bestimmung von HGF .....	84
7.2	HGF-Korrelations-Analyse.....	86
8	Verzeichnisse .....	87

## Inhaltsverzeichnis

8.1	Abbildungen .....	87
8.2	Tabellen.....	88
9	Literaturverzeichnis .....	89
10	Danksagung .....	105
11	Eidesstattliche Versicherung .....	106
12	Lebenslauf.....	107

## Abstract Deutsch

**Titel: Der Hepatocyte Growth Factor-Serumspiegel als prognostischer Faktor für ein Leberversagen und den lebersversagen-assoziierten Tod nach Leberteileresektion am Menschen**

**Fragestellung:** Die Regenerationskapazität der Leber ermöglicht Teilresektionen des Organs. Wachstumsfaktoren wie Hepatocyte Growth Factor (HGF) spielen hierbei eine entscheidende Rolle. Das Posthepatektomie-Leberversagen (Posthepatectomy liver failure, PHLF) sowie der lebersversagen-assoziierte Tod (Liver failure related death, LF-RD) nach Leberteileresektion (Partial hepatectomy, PHx) bleiben gefürchtete Komplikationen. Die Identifikation von Patienten mit erhöhtem Risiko für ein dadurch bedingtes vermindertes Leberregenerationspotential ist schwierig. Der HGF-Serumspiegel ist fähig einen Leberschaden anzuzeigen. Ein Zusammenhang zwischen verringerter Leberfunktionskapazität nach PHx und dem HGF-Serumspiegel deutet sich an, ist allerdings nicht hinreichend erforscht.

**Material und Methoden:** 150 Patienten nach PHx wurden prospektiv zwischen 2010 und 2013 beobachtet.

Präoperativ und engmaschig postoperativ wurde die Leberfunktionskapazität mittels LiMAx (<sup>13</sup>C-Methacetin-Atemtest), Routinelaborparameter und der HGF-Serumspiegel gemessen. Endpunkte waren das Auftreten des PHLF nach 50/50-Kriterien, nach der PHLF-Klassifikation der ISGLS, definiert durch den LiMAx < 85 µg/kg/h am 1.POD (postoperative day) oder das Auftreten des LF-RD innerhalb von 85 Tagen.

**Ergebnisse:** Die Daten von 128 Patienten gingen in die Analyse ein. Ein PHLF trat in n=5 nach 50/50-Kriterien; n=25 nach ISGLS-Klassifikation inklusive Änderung des klinischen Managements; n=19 laut LiMAx am 1.POD auf. 4 Patienten verstarben an einem LF-RD.

Trat ein PHLF oder LF-RD auf, lagen die HGF-Serumspiegel am 1.POD durchschnittlich höher als bei Patienten mit unauffälligen postoperativen Verlauf (PHLF nach 50/50-Kriterien p= ,001; klinisch relevantes PHLF nach ISGLS p= ,002; PHLF laut LiMAx am

1.POD  $p=,016$ ; LF-RD  $p=,014$ ). Multivariat war der HGF-Serumspiegel am 1.POD einzig für ein klinisch relevantes PHLF nach ISGLS ein Prädiktor.

Der HGF-Cutoff-Wert von 9973 pg/ml sagt mit Sensitivität von 100% und Spezifität von 94% (PPW: ,42; NPW: 1,00) ein PHLF nach 50/50-Kriterien vorher. Beim HGF-Cutoff-Wert von 6197 pg/ml wird mit Sensitivität von 64% und Spezifität von 80% (PPW: ,43; NPW: ,90) ein klinisch relevantes PHLF nach ISGLS-Klassifikation angezeigt. Ob ein PHLF laut LiMAx-Wert am 1.POD vorliegt, wird beim HGF-Cutoff-Wert von 5816 pg/ml mit Sensitivität von 63% und Spezifität von 72% (PPW: ,29; NPW: ,92) vorhergesagt. Der LF-RD wird mit Sensitivität von 100% und Spezifität von 92% (PPW: ,29; NPW: 1,00) bei einem HGF-Cutoff-Wert von 9674 pg/ml angekündigt.

**Zusammenfassung:** Das Auftreten eines PHLF oder des LF-RD ist mit einem höheren HGF-Serumspiegel am 1.POD assoziiert. Es zeichnen sich Cutoff-Werte des HGF-Serumspiegels am 1.POD mit hohem prädiktivem Wert für ein PHLF/LF-RD ab. Der HGF-Serumspiegel zeigt früh postoperativ ein PHLF oder den LF-RD an.

## Abstract Englisch

**Title:** The Hepatocyte Growth Factor serum levels as a prognostic factor for liver failure and liver failure related death after liver resection in humans

**Question:** The regeneration capacity of the liver allows partial resection of the organ. Growthfactors such as Hepatocyte Growth Factor (HGF) play a crucial role. Posthepatectomy liver failure (PHLF) and liver failure related death (LF-RD) after partial hepatectomy (PHx) remain dreaded complications. The identification of patients with a decreased potential in liver regeneration is difficult. HGF serum levels are capable to indicate liver damage. A correlation between reduced hepatic capacity after PHx and HGF serum levels is suggested, but is not sufficiently researched.

**Material and Methods:** 150 patients after PHx were prospectively observed from 2010 to 2013.

Preoperative and postoperative liver function capacity was measured by LiMAx (<sup>13</sup>C-Methacetin-breathtest), routine laboratory parameters and HGF serum levels. Endpoints were the incidence of PHLF defined by 50/50-Criteria, Classification of the ISGLS, the LiMAx <85 µg/kg/h at 1.POD (postoperative day) or the occurrence of LF-RD within 85 days.

**Results:** The data of 128 patients were included in the analysis. A PHLF was observed in n = 5 to 50/50-Criteria; n = 25 to ISGLS-Classification included change in clinical management and n = 19 according to LiMAx 1.POD. 4 patients died of LF-RD.

HGF serum levels on 1.POD in patients with PHLF or LF-RD were higher than in patients with an uneventful postoperative course (PHLF by 50/50-Criteria p=,001; clinically relevant PHLF by ISGLS-Classification p=,002; PHLF by LiMAx on 1.POD p=,016; LF-RD p=,014). In multivariate analysis HGF serum levels on 1.POD were only a predictor for PHLF by ISGLS-Classification.

The HGF cutoff value of 9973 pg/ml predicts a PHLF by 50/50-Criteria with sensitivity of 100% and specificity of 94% (PPV:,42; NPV:1,00). A clinically relevant PHLF by ISGLS-Classification was predicted by a cutoff value of 6197 pg/ml with sensitivity of 64% and specificity of 80% (PPV:,43; NPV:,90). According to LiMAx on 1.POD there was a cutoff

value of 5816 pg/ml for the occurrence of PHLF with sensitivity of 63% and specificity of 72% (PPW:.,29; NPW:.,92). The LF-RD is announced with sensitivity of 100% and specificity of 92% (PPW:.,29; NPW:1,00) by a HGF cutoff value of 9674 pg/ml.

**Summary:** The occurrence of PHLF or LF-RD is associated with higher HGF serum levels on 1.POD. Cutoff values of HGF serum levels with a high predictive value for PHLF/LF RD on 1.POD are shown.



## Abkürzungsverzeichnis

AFLD	Alcoholic fatty liver disease /Alkoholische Fettlebererkrankung
ALF	Akutes Leberversagen
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASA	American Society of Anesthesiologists
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUC	Area under the curve
BCL2	B-cell lymphoma 2-Protein
CCl <sub>4</sub>	Carbontetrachlorid
c-MET	Eigenname für den HGF- Rezeptor
C-Peptid	connecting peptide
CTP	Child-Turcotte-Pugh-Score
DRKS	Deutsches Register klinischer Studien
ELISA	Enzyme-linked-Immunabsorbent-Assay
g	Gramm
GH	Growth Hormone
GLDH	Glutamatdehydrogenase
γ-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
HDL	High Density Lipoprotein-Cholesterin
HGF	Hepatocyte Growth Factor
ICG	Indocyaningrün
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
INR	International Normalized Ratio
ISGLS	International Study Group of Liver Surgery

## Abkürzungsverzeichnis

kgKG	Kilogramm Körpergewicht
LF-RD	Liver Failure- related Death/ Leberversagen-assoziiertes Tod
LDL	Low Density Lipoprotein-Cholesterin
LiMAx	maximum liver function capacity
mg	Milligramm
MELD	Model of End Stage Liver Disease
min	Minute
ml	Milliliter
MMPs	Matrix- Metalloproteinasen
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
NAFLD	Non-Alcoholic fatty liver disease
NPV	Negativer prädiktiver Wert
PCHE	Pseudocholinesterase
PHx	partielle Hepatektomie/ Leberteilresektion
PHLF	Posthepatektomie Liverfailure/ posthepatektomie Leberversagen
POD	postoperative day, postoperativer Tag
PPW	Positiver prädiktiver Wert
rhHGF	rekombinantem humanem HGF
ROC	Receiver-Operating-Characteristic
SB	Serumbilirubin
SPSS	Statistical Package of Social Science
u-PAR	urokinase-type Plasminogen activator Receptor
uPA	urokinase- type Plasminogen activator

# 1 Einleitung

## 1.1 *Leberfunktionskapazität nach Leberteileresektionen*

Leberteileresektionen (partielle Hepatektomien, PHx) sind die Behandlung der Wahl bei malignen und symptomatischen benignen Lebertumoren<sup>1-3</sup>. Fortschritte in der Leberchirurgie ermöglichen auch bei Patienten mit chronischer Leberschädigung wie Fibrose, Steatose oder chemotherapie-assoziiertes Funktionsbeeinträchtigung ausgedehntere Resektionen<sup>4-7</sup>. Der Wunsch nach einer reduzierten Anzahl von Tumorrezidiven rechtfertigt in vielen Fällen die Durchführung von radikalen partiellen Hepatektomien<sup>8</sup>. Dabei ist das postoperative Leberversagen (Posthepatektomy liver failure, PHLF) trotz der Einführung von Leberfunktionstests<sup>9,10</sup>, der perioperativen CT-Volumetrie<sup>11,12</sup> und der Leberpräkonditionierung durch Pfortaderembolisation noch immer eine Besorgnis erregende Komplikation<sup>2,13-15</sup>. Es geht mit einer deutlich höheren Morbidität und Mortalität einher<sup>16-19</sup>. Eine ausreichende, postoperative funktionelle Reserve der Leber ist Voraussetzung für die Fähigkeit des Organs, sich angemessen zu regenerieren. Die Identifikation von Patienten mit einem erhöhten Risiko für postoperative Komplikationen, für ein PHLF, den leberversagen-assoziierten Tod (Liver failure related death, LF-RD) und damit für ein vermindertes Leberregenerationspotential gestaltet sich schwierig. Ein Grund dafür ist, dass es weder eine universelle Definition für das PHLF, noch standardisierte Tests gibt, die frühzeitig Hinweise auf diese Komplikation geben und allgemein akzeptiert sind<sup>9,14,18,20-23</sup>. Anerkannte Wachstumsfaktoren wie Hepatocyte Growth Factor (HGF) sind in ständiger Diskussion ob ihrer klinischen Nutzbarkeit. Im Tiermodell sind HGF-Serumspiegel gut untersucht und weisen auf einen Leberschaden hin<sup>24,25</sup>. Dies konnte auch am Menschen demonstriert werden<sup>26,27</sup>. Ein Zusammenhang zwischen erniedrigter Leberfunktionskapazität nach Leberteileresektion und HGF-Serumspiegeln am Menschen deutet sich an, ist allerdings noch nicht hinreichend erforscht<sup>28-30</sup>.

### 1.1.1 Das postoperative Leberversagen

Die International Study Group of Liver Surgery (ISGLS) um Rahbari et al. orientiert sich an der allgemeinen Beschreibung des postoperativen Leberversagens: Nach einer Leberteilektomie muss das verbleibende Lebergewebe fähig sein, seine Synthese-, Exkretions- und detoxifizierenden Vorgänge aufrechterhalten zu können. Dies entspricht einer postoperativen Leberfunktionskapazität, die für eine Leberregeneration ausreichend erscheint. Ist das nicht der Fall, charakterisiert die ISGLS dies anhand der Prothrombinzeit (oder International Ratio; INR) und des Serum-Bilirubinspiegels am und nach dem 5. postoperativen Tag und teilt es anhand der Auswirkung auf das klinische Management in drei Schweregrade ein (PHLF Grad A nach ISGLS: abnorme Laborparameter ohne Änderung des klinischen Managements; PHLF Grad B nach ISGLS: abnorme Laborparameter mit Änderung des klinischen Managements durch nicht-invasive Maßnahmen; PHLF Grad C nach ISGLS: abnorme Laborparameter mit Änderung des klinischen Managements durch invasive Maßnahmen, siehe [Tabelle 2, Seite 26](#))<sup>20,21</sup>. Auch in vielen anderen Arbeiten definiert man das postoperative Leberversagen nach Leberteilektomie über eine Hyperbilirubinämie und/oder eine eingeschränkte plasmatische Gerinnung<sup>7,31-35</sup>. Die Grenzwerte für das Serumbilirubin und die Prothrombinzeit bzw. die INR sind dabei nicht einheitlich. In manchen Fällen werden auch Symptome wie Enzephalopathie und oder Aszites als qualitative Faktoren der Leberfunktionsbeeinträchtigung hinzugezogen. Viele Arbeiten verwenden das „50-50-Criteria“ Modell von Balzan et al. (50-50-Kriterien), um ein PHLF oder den Fall eines LF-RD vorherzusagen<sup>36-39</sup>. Dies ist die Kombination aus der Prothrombinzeit <50% und dem Serumbilirubin >50µmol/l (oder 2,9 mg/dl) am 5. postoperativen Tag<sup>22</sup>. Beide Werte verschlechtern sich im postoperativen Verlauf nach Leberteilektomie. Bei unauffälligen postoperativen Verläufen normalisieren sich die genannten Werte bis zum 5. postoperativen Tag<sup>22,40</sup>. Ist das nicht der Fall, geht dies mit einem signifikanten Anstieg der postoperativen Mortalität einher<sup>21</sup>.

2009 veröffentlichten Stockmann et al. einen neuen Bedside-Test zur Ermittlung der maximalen Leberfunktion basierend auf der Verstoffwechslung von <sup>13</sup>C-markiertem Methacetin (LiMAx, maximum liver function capacity)<sup>9</sup>. Die Testergebnisse zeigen effektiv die Leberfunktionskapazität auch bei geschädigtem Lebergewebe an<sup>15,41</sup>. Anhand des LiMAx-Messwertes am 1. POD kann ein Leberversagen vorhergesagt werden.

Mittlerweile wird dieser vielversprechende LiMAx-Test an mehreren Standorten europaweit untersucht und genutzt.

Um eine adäquate funktionelle postoperative Reserve und dementsprechend die Fähigkeit der Leber sich zu regenerieren abschätzen zu können, wurden viele Faktoren im Lebergewebe und Serum untersucht<sup>42</sup>. HGF ist einer von mehreren Wachstumsfaktoren, denen eine Bedeutung im postoperativen Monitoring nach Leberteilresektion zugesprochen wird. Wie oben angedeutet versuchen viele Tests und Klassifikationen, die potentiell letale Komplikation des postoperativen Leberversagens nach Leberteilresektion inklusive der erniedrigten Regenerationskapazität vorherzusagen und damit vermeidbarer zu machen. Ein besseres Verständnis der involvierten Mechanismen insbesondere auf Ebene der Wachstumsfaktoren wie HGF scheint demzufolge erstrebenswert<sup>15</sup>.

## ***1.2 Bedeutung des Wachstumsfaktors HGF für die Leberregeneration***

Eine hohe Mortalität nach PHx ist meist auf die Patienten limitiert, die ein terminales Leberversagen entwickeln. Aber auch eine temporäre Insuffizienz nach ausgedehnten Resektionen ist in einem hohen Maß mit Morbidität und Mortalität verbunden. Dies tritt auf, wenn regenerative Antworten nach einer Leberteilresektion nicht ausreichen, um die Leberschädigung zu kompensieren<sup>43</sup>. Während der Regeneration laufen viele zelluläre Adaptionsvorgänge und Mikroveränderungen ab, in denen Wachstumsfaktoren wie HGF eine Schlüsselrolle zukommt<sup>44-47</sup>.

Pathomechanismen der Leberregeneration sowie die Wirkungsweise von HGF sind am besten durch die PHx an Nagetieren untersucht worden. Hierbei handelt es sich bei dem experimentellen Vorgehen um eine in einheitlicher operativer Schrittfolge wiederholbare 2/3-partielle Hepatektomie<sup>48</sup>. Verlust von Lebermasse kann ebenfalls durch die Anwendung von hepatotoxischen Chemikalien (zum Beispiel Carbontetrachloride) induziert werden. Es folgt in beiden Fällen eine Entzündungsreaktion, die geschädigtes Zellmaterial abräumt, gefolgt von einer geordnet ablaufenden regenerativen Antwort, die von den ersten Minuten an nach Operation oder chemischer Zellschädigung beobachtet werden kann<sup>45</sup>. Bei einem komplikationslosen postoperativen Verlauf nach PHx am Menschen stellt sich auf diesem Weg durchschnittlich innerhalb eines Jahres die präoperative Lebermasse wieder her<sup>49</sup>.

Es wird angenommen, dass nach einer PHx zuerst eine Zytokinkaskade der Kupferzellen ausgelöst wird, die Wachstumsfaktoren und Stoffwechselfvorgänge in Hepatozyten stimuliert. Andere nicht-parenchymale Leberzellen wie Itozellen, vaskuläre oder biliäre Endothelzellen proliferieren zeitlich nach Hepatozyten<sup>50</sup>. Der derzeitige Wissensstand ist, dass sich schon 48 h nach einer PHx mehr als 95% der Hepatozyten in der Proliferationsphase befinden und HGF eine sehr entscheidende Rolle hierbei spielt<sup>51</sup>. Sobald HGF nach PHx freigesetzt wird, bindet es an seinen Rezeptor c-Met auf der Oberfläche von Hepatozyten<sup>52-54</sup>. Wird der HGF-c-Met-Signalweg experimentiell bei Mäusen unterbrochen, führt das nach einer PHx entweder zu einer signifikanten Verzögerung des Einstiegs in den Zellzyklus oder zum Leberversagen mit Todesfolge<sup>55</sup>. Auch Untersuchungen am Menschen zeigen, dass der Serum-HGF-Spiegel bei Patienten mit akutem Leberversagen möglicherweise ein Indikator für eine schlechte Leberfunktion sein kann<sup>27,56</sup> und das Organversagen mit einem Mangel an HGF in Verbindung stehen könnte<sup>57,58</sup>.

### **1.2.1 HGF**

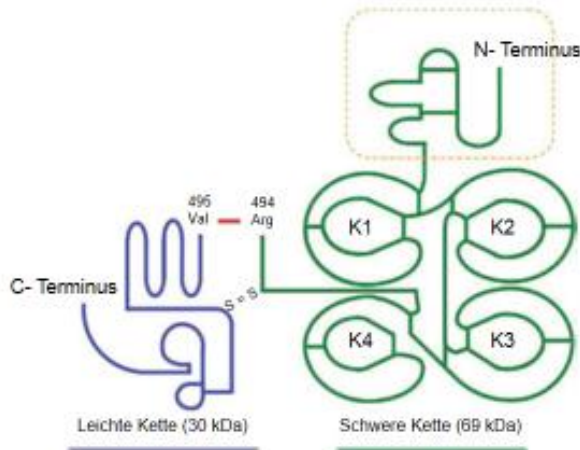
Der Hepatocyte growth factor wurde initial als ein potentes Mitogen für erwachsene Hepatozyten entdeckt. Mittlerweile wird er als ein pleiotroper Wachstumsfaktor mit einer großen Reichweite biologischer Aktivitäten in Epithel- und Mesenchymalzellen angesehen<sup>59</sup>.

Wachstumsfaktoren sind Signalmoleküle, die mit zellulären Rezeptoren interagieren. Sie lösen hierbei mitogene Reaktionen aus, die zu DNA-Synthese und Zellzyklusprogression führen. Hierfür binden jene Moleküle meist an Rezeptoren mit Tyrosin-Kinase-Aktivität<sup>46</sup>. Per Definitionem ist HGF ein Wachstumsfaktor.

#### **1.2.2.1 Struktur und Herkunft von HGF**

Der Wachstumsfaktor HGF ist ein hitzelabiles Polypeptid mit der Struktur eines Heterodimers und dem ungefähren molekularen Gewicht von 90 kDa. Davon gehören circa 69 kDa zu einer schweren ( $\alpha$ -) Kette, die aus einer Haarnadelschleife und 4 folgenden Schleifendomänen besteht<sup>60</sup>. Die leichte ( $\beta$ -) Kette umfasst etwa 35 kDa und

beinhaltet eine Pseudoserinprotease<sup>61</sup>. Eine Disulfidbrücke hält sie zusammen<sup>62</sup> (siehe [Abbildung 1](#)).



**Abbildung 1: Primäre Struktur von HGF.**

Abbildung aus Ido et al.<sup>63</sup>

Die aktive Form des Wachstumsfaktors wird aus einer 728 Aminosäure-langen, inaktiven Vorstufe synthetisiert. Durch Proteolyse wird das sogenannte prepro-HGF über eine Zwischenstufe (pro-HGF) in das aktive HGF gespalten<sup>64</sup>. Prepro-HGF wird durch eine 6kB mRNA codiert. Durch Northern Hybridisation konnte dessen Existenz nicht nur in Leberzellen, sondern auch im Gewebe der Lunge, der Nieren, des Thymus und im Gehirn nachgewiesen werden<sup>65</sup>. Andere Quellen konnten HGF in der humanen Placenta nachweisen<sup>61</sup>. Speicher in der Leber, speziell die periportale Region haben hierbei den größten Stellenwert<sup>66,67</sup>. Dabei konnte durch Zellfraktionierung und in-situ-Hybridisierung demonstriert werden, dass HGF vor allem in nicht-parenchymalen Stromazellen wie Kupferzellen (Makrophagen der Leber), sinusidalen Endothelzellen<sup>68</sup> und in Itozellen (fettspeichernde Produzenten der intralobulären Bindegewebsfasern<sup>69-71</sup>) exprimiert wird. Parenchymale Hepatozyten produzieren kein HGF, sodass angenommen wird, dass der Faktor über einen parakrinen Mechanismus agiert<sup>59</sup>. Gleichzeitig wurden erhöhte HGF-Plasmaspiegel und eine Hochregulation von HGF-mRNA in gesunden Organen bei Patienten mit Leberkrankheiten, wie einer akuten Hepatitis, demonstriert, was für einen daneben existierenden endokrinen Effekt des Wachstumsfaktors spricht<sup>72,73</sup>. Diese Annahme wird durch die konstante Präsenz des Glycoproteins HGF in exokrinen Azinuszellen des Pankreas, in kortikalen Neuronen des Gehirns, in den C-Zellen der

Schilddrüse, in den Drüsenzellen der Speicheldrüsen und in den Brunnerdrüsen des Duodenums bei Hasen ohne Leberaffektion untermauert. Leber, Milz, Niere und Thymus hingegen schienen ohne ein Lebertrauma keine relevanten Mengen des Wachstumsfaktors zu enthalten<sup>74</sup>. Aus diesen Fakten ergibt sich eine klinische Nutzbarkeit der Serumspiegelmessungen von HGF.

### **1.2.2.2 Synthese und molekulare Wirkungsweise von HGF**

Der Mechanismus der Umwandlung von inaktivem, einkettigem prepro-HGF zu aktivem, zweikettigem HGF sowie dessen Wirkungsweise an seinem Rezeptor c-MET ist gut untersucht<sup>75</sup>.

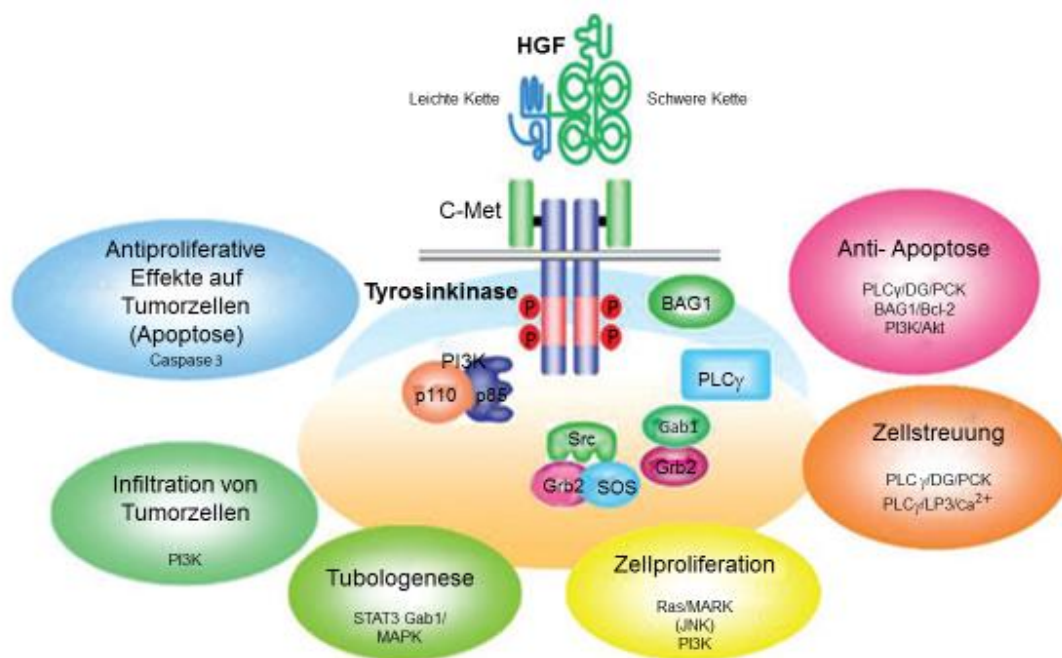
Nach einer N-terminalen Abspaltung eines Signalpeptids kann pro-HGF aus der Zelle sekretiert werden<sup>64</sup>. Anschließend interagiert diese Peptidvorstufe ohne eigene biologische Aktivität mit der extrazellulären Matrix, wie mit den Kollagentypen I, III, V und VI<sup>76</sup>, welche das Substrat nicht nur speichern, sondern auch die Bindung an den Rezeptor c-MET fördern<sup>77</sup>. Nach einer Leberschädigung wie einer PHx werden Enzyme durch Induktion des fibrinolytischen Systems aktiviert. Diese setzen das gebundene pro-HGF zu aktiven HGF um<sup>78</sup>. So initiiert der urokinase-type Plasminogen activator Rezeptor (u-PA) die fibrinolytische Kaskade und damit urokinase-type Plasminogen activator (uPA), Plasmin und Matrix-Metalloproteinasen (MMPs). Die beiden letzteren lösen pro-HGF aus der extrazellulären Matrix heraus<sup>79</sup>, sodass anschließend die proteolytische Umwandlung in aktives HGF durch den primären Mediator, der Serinprotease HGF activator (HGFA) erfolgen kann<sup>80</sup>. Daneben ist der uPA zu nennen, der ebenfalls die Spaltung in die heterodimere Form katalysiert. Dies beruht auf der Ähnlichkeit von pro-HGF zu Plasminogen, der eigentlichen Zielstruktur von uPA<sup>44</sup>. Außerdem sind tissue plasminogen activator und Matriptase ebenfalls an der Herstellung von aktiven HGF beteiligt<sup>81</sup>.

Stoffe wie Norepinephrin und IL-6, die ebenfalls frühzeitig nach einer Leberteileresektion im Plasma ansteigen, können die Produktion von HGF fördern<sup>82,83</sup>. während TGF- $\beta$  bekannt dafür ist, einen totalen Abbruch der HGF-Wirkung zu erzeugen. Auch Heparin ist zu einem gewissen Maße dazu fähig<sup>62</sup>.

Bindet aktives HGF von extrazellulär an seinen spezifischen Rezeptor c-MET, autophosphoryliert dieser zwei seiner Tyrosinreste, um damit eine Multianlagerungsstelle für verschiedenen Substrate zu generieren. Diese intrazelluläre Domäne dient der



Bindung bzw. Aktivierung dahinter liegender Signalmoleküle und Adapterproteine, durch welche zelluläre Antworten auf HGF vermittelt bzw. verstärkt werden. Dies geschieht über mehrere Signalwege<sup>52-54</sup> (siehe *Abbildung 2*). C-MET wird von normalen Hepatozyten und anderen epithelialen Geweben exprimiert<sup>84</sup>. Der HGF-vermittelte mitogene Signalweg in Hepatozyten wird primär durch eine Aktivierung des Ras/MAPK-Systems und folgender erhöhter Expression von Cyclin D1 und D2 bewerkstelligt<sup>85,86</sup>. Unter anderem bewirkt der HGF-c-MET-Signalweg auf diesem Weg die DNA- Synthese nach Leberverletzung<sup>55</sup>.



**Abbildung 2: HGF, sein Rezeptor c-Met und die verschiedenen Signalwege.**

Die vielfältigen physiologischen Effekte können über nur einen Rezeptor vermittelt werden, indem unterschiedliche Adapterproteine an die intrazelluläre, multifunktionelle Andockstelle binden<sup>63</sup> (Akt: Protein Kinase B, BAG1: BCL2- associated athanogene 1, Ca<sup>2+</sup>: Calcium, Gab1: GRB2-associated-binding protein 1, GRB2: Growth factor receptor-bound protein 2, JNK: c-Jun N-terminale Kinasen, LP3: Link Protein 3, MAPK: mitogen-activated protein-kinase, PCK: Protein Kinase C, PI3K: phosphatidylinositol 3-kinase bestehend aus p110 und p85, PLC $\gamma$ : Phospholipase C gamma 1, RAS: Rat sarkoma Protein, Src: Tyrosinkinase Src, SOS: Son of Sevenless, STAT3: Signal transducer and activator of transcription 3)

Abbildung modifiziert nach Ido et al.<sup>63</sup>

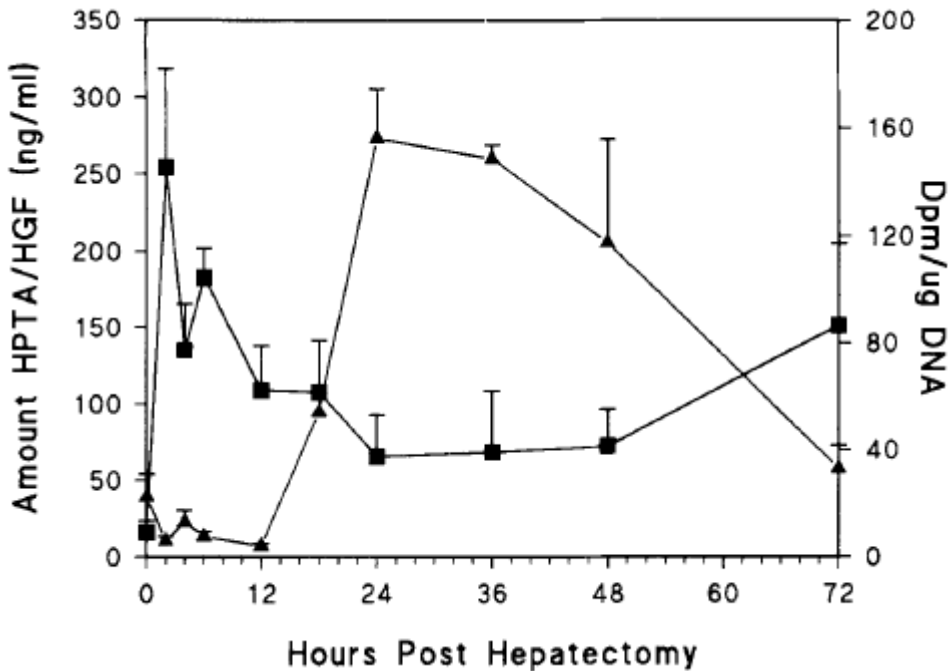
#### **1.2.2.4 Wirkungen von HGF an der Leber**

Zellschädigungen der Leber wie eine PHx oder die Behandlung mit dem Toxin Carbontetrachlorid (CCl<sub>4</sub>) bewirken im Tiermodell eine Freisetzung der HGF- Vorräte auf den 10- bis 20-fachen Plasmaspiegel innerhalb der ersten zwei Stunden<sup>73</sup> (vgl. [Abbildung 3, Seite 19](#)). Auf diese Weise wird aktives und inaktives HGF innerhalb der ersten drei Stunden nach einer PHx aus den intrahepatischen Speichern verbraucht. Auch der Rezeptor c-Met wird 30 bis 60 min nach einer PHx durch Phosphorylierung des Tyrosinrestes aktiviert<sup>87</sup>. Anschließend erfolgt zwischen 3 und 72 Stunden nach PHx eine Neusynthese von aktivem HGF und seinen Vorstufen<sup>88</sup>. Dies geht mit dem Fakt einher, dass die mRNA des Wachstumsfaktors gleichermaßen drei Stunden nach PHx ansteigt<sup>60,89</sup>.

In vitro führt die Behandlung von Hepatozytenkulturen mit HGF zu starken Mitosevorgängen sowie klonaler Expansion der Hepatozyten<sup>90</sup>. In vivo lässt sich ebenfalls eine ausgeprägte Proliferationsantwort der Hepatozyten auf HGF darstellen. Dies geschieht beispielsweise nach Injektion des Wachstumsfaktors in die Pfortader gesunder Ratten und Mäuse, die mit einer Vergrößerung der Leber reagieren<sup>91,92</sup>. Unter anderem wird dies von HGF als ein potenter Stimulator der Angiogenese in vivo unterstützt. In Vitro konnte bewiesen werden, dass der Wachstumsfaktor Endothelzellen zur Proliferation und Migration anregt<sup>93</sup>.

HGF als einen Initiator der Leberregeneration zu betrachten, wird durch die Tatsachen unterstützt, dass HGF ein direktes Mitogen für Hepatozyten ist und seinen Rezeptor c-Met sehr früh nach Leberschädigung aktiviert<sup>55</sup>. HGF leitet viele Vorgänge während der Leberregeneration ein, wenn es an Nagetieren angewendet wird. Es führt zu einer massiven Lebervergrößerung<sup>51</sup>. Weitere Studien an Tiermodellen zeigen nicht nur, dass die intravenöse Gabe von HGF die Entstehung einer Leberfibrose bei Dimethylnitrosamin-geschädigter Leber unterdrückt<sup>94</sup>, sondern auch, dass eine geringere Expression von HGF und c-Met in zirrhotischen Lebergeweben vorhanden ist, was zu einem vermindertem Regenerationspotential führt<sup>24,25</sup>. So bewirkt eine postoperative HGF-Substitution bei leberteilreszierten Ratten mit induzierter Leberzirrhose eine verbesserte Leberfunktion und -regeneration<sup>95-97</sup>. Dabei muss allerdings beachtet werden, dass HGF und dessen Aktivierung wie oben beschrieben von anderen Faktoren abhängig ist und der Wachstumsfaktor nicht einzeln agieren kann. Derzeitig ist kein

Substrat bekannt, das einzeln eine funktionierende Leberregeneration garantiert. HGF spielt hierbei jedoch eine entscheidende Rolle<sup>46,47,50,51</sup>.



**Abbildung 3: Korrelation zwischen Plasmaspiegeln von HGF und hepatozytärer DNA nach PHx.**

Dargestellt ist der Verlauf des HGF (■)- und des [<sup>3</sup>H]thymidin-DNA-Spiegels (▲) im Mittelwert und Standardabweichung von 6 Ratten. Die Unterschiede zwischen dem präoperativen HGF-Spiegel und den Werten 2 bzw. 6h nach PHx sind statistisch signifikant ( $p < 0,01$ ). Abbildung aus Lindroos et al.<sup>73</sup>.

### 1.2.2.5 Klinischer Nutzen von HGF am Menschen

In Hinblick auf die Effekte, die HGF auf die Leber hat, wird seit einiger Zeit die Prädiktion des HGF-Spiegels im Blut sowie der pharmakologische Nutzen des Wachstumsfaktors diskutiert. Wie beschrieben sind die meisten von HGF induzierten Vorgänge allerdings an Nagetieren untersucht. Wenn das Glykoprotein fähig ist, im Tiermodell das Überleben bei einem von Stoffen wie D-Galaktosamin, Lipopolysaccharid oder CCl<sub>4</sub> herbeigeführtem akuten Leberversagen zu verbessern und den Schaden zu mildern<sup>98-103</sup>, liegt die Übertragung der Fragestellung bezogen auf den menschlichen Organismus nicht fern.

Auf dieser Grundlage wurden Serum-HGF-Spiegel bei Patienten mit verschiedenen Leberschädigungen untersucht. Bei Patienten mit einer akuten Hepatitis fanden sich hierbei höhere Werte als bei der gesunden Kontrollgruppe<sup>72</sup>. Bei Patienten mit akutem Leberversagen lagen die HGF-Serumspiegel ebenfalls 9 Mal höher als bei Lebergesunden<sup>26,27</sup>. Je größer die Komplikationsrate (hepatische Enzephalopathie oder Todesfälle) bei diesen Untersuchungen war, umso stärker verhielt sich der Anstieg des HGF-Spiegels im Blut.

Auf der Basis dieser Ergebnisse wird an semiquantitativen Tests geforscht, um zügig den HGF-Serumspiegel im klinischen Alltag zu bestimmen. Damit würde man das Ziel verfolgen, fulminante Verläufe von Leberkrankheiten vorherzusagen und die Prognose einschätzen zu können<sup>28</sup>. Ebenso wurde die Korrelation zwischen HGF-Serumspiegeln und Leberregeneration nach partieller Hepatektomie am Menschen untersucht<sup>29,30</sup>. Die letzten Ergebnisse diesbezüglich zeigten keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen der postoperativen Entwicklung eines PHLF und dem HGF-Serumspiegel.

Die Herstellung von rekombinantem humanem HGF (rhHGF) verspricht Behandlungsmöglichkeiten von Leberversagen und Leberzirrhose, weshalb die Arbeitsgruppe um Ido et al. an rhHGF als einsetzbares Medikament forscht<sup>104-106</sup>.

## 2 Ziele der Dissertation

Bisher existierende Ergebnisse prospektiver Studien zur Prädiktion eines postoperativen Leberversagens wie z. B. durch die 50-50-Kriterien nach Blazan et al.<sup>22</sup>, die PHLF-Klassifikation der ISGLS nach Rahbari et al.<sup>20</sup> oder den Methacetin-Atemtest<sup>9</sup> lassen anhand der maximalen Leberfunktionskapazität Aussagen zum postoperativem Outcome der Patienten zu. Studien über den zeitlichen Verlauf des HGF-Serumspiegels existierten bis dato vornehmlich am Tiermodell.

Anhand der PHLF-Kriterien (nach Balzan et al. und der ISGLS um Rahbari et al.) und dem Leberfunktionstest (<sup>13</sup>C-Methacetin-Test, LiMAX) nach einer Leberteileresektion soll der Serumspiegel von HGF bezüglich der Prädiktion von postoperativem Leberversagen und dem lebersagen-assoziierten Tod am Menschen untersucht werden.

Des Weiteren sollen Zeitpunkte herausgearbeitet werden, zu denen ein Monitoring durch HGF-Bestimmung zur frühzeitigen Einschätzung des postoperativen Verlaufes sinnvoll wäre.

### 2.1 Fragestellungen der Dissertation

Es sollen folgende Fragen beantwortet werden:

- Besteht ein Unterschied in den prä- oder postoperativen Serumspiegeln von HGF nach einer Leberteileresektion zwischen Patienten, die ein PHLF entwickeln und oder lebersagen-assoziiert sterben und Patienten, deren postoperativer Verlauf unauffällig ist?
- Ist anhand der präoperativen Wachstumsfaktorenspiegel im Serum eine Aussage über die postoperative Prognose eines Patienten nach einer Leberteileresektion möglich?
- Zu welchem postoperativen Zeitpunkt lässt sich anhand der Wachstumsfaktoren eine Aussage über den Verlauf nach einer Leberteileresektion machen?

- Welche Bedeutung haben die Serumspiegel von HGF im Vergleich zum Restlebertvolumen und den Spiegeln anderer im Blut bestimmter Leberwerte?
- Besteht die Möglichkeit eines verbesserten Monitorings nach einer Leberteilresektion durch die Bestimmung von HGF zur früheren Erkennung eines PHLF oder einem LF-RD?

## 3 Methodik

### 3.1 Studiendesign und Studienzeitraum

Um die Verläufe von verschiedenen Wachstumsfaktoren während der Leberregeneration nach Leberteilresektion näher zu untersuchen, wurde die klinische Studie mit dem Namen „Bedeutung der Expressionsmuster bestimmter Zytokine und Wachstumsfaktoren nach Leberteilresektionen zur Einschätzung des Leberregenerationspotentials“ entworfen. Eine Genehmigung der Ethikkommission lag vor (Nummer des Ethikvotums EA2/104/09; DRKS-Nummer: DRKS00003828). Die Untersuchung wurde als eine prospektive Beobachtungsstudie konzipiert. Hierfür wurden zwischen April 2010 und Januar 2013 an der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie der Charité-Universitätsmedizin Berlin 150 Patienten eingeschlossen, bei denen eine Leberteilresektion geplant war. Die Leberresektionen von unterschiedlichem Ausmaß waren aufgrund von Lebertumoren indiziert. Die Entitäten der Lebertumore waren hierbei verschieden und wurden mit einem kurativem Ansatz chirurgisch behandelt. Der prä-, peri- und postoperative Verlauf wurde dokumentiert, analysiert und ausgewertet.

Im Rahmen dieser Arbeit sollen Teilaspekte der prospektiven Studie unter spezieller Berücksichtigung der oben genannten Fragestellung untersucht werden.

#### 3.1.1 Einteilung des postoperativen Outcomes

Postoperative Komplikationen sind nach der revidierten Klassifikation für chirurgische Komplikationen der Clavien-Gruppe<sup>107</sup> (*Tabelle 1, Seite 25*) bewertet. Für eine Einschätzung des PHLF wird sich der 50-50-Kriterien<sup>22</sup> (SB >50 µmol/ml bei gleichzeitigem Quickwert <50% am 5. POD), der PHLF-Einteilung der ISGLS-Klassifikation<sup>20</sup> und dem prognostischen Faktor des LiMax-Tests am 1. POD (Atemtestwert unter 85 µg/kg/h) bedient. Die PHLF-Klassifikation der ISGLS orientiert sich ebenfalls am SB und der INR (anhand der Referenzwerte des lokalen Labors der Charité: SB >1 mg/dl, INR >1,25) am oder nach dem 5. POD und ist zur besserem Übersicht in *Tabelle 2, Seite 26* ausführlich dargestellt. Im Sinne einer klinischen Anwendbarkeit erfolgte neben der Einstufung des Patientenoutcomes in die 4 PHLF-

Grade analog der ISGLS- Einteilung (kein PHLF, PHLF Grad A, B, und C) eine Zuordnung in zwei Gruppen entsprechend der ISLGS-Schweregrad-Einteilung:

Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF, das heißt Patienten, die keine Änderung ihres klinischen postoperativen Managements erforderten (kein PHLF laut ISGLS-Definition oder PHLF Grad A: isoliert abnorme Laborparameter ohne klinische Symptomatik), sollen mit Patienten aus Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF verglichen werden, bei denen aufgrund von klinischen Symptomen oder Komplikationen eine Änderung des klinischen Managements erfolgen musste (PHLF Grad B und C, das heißt ein klinisch relevantes PHLF).

Ein Leberversagen-assoziiertes Tod wird definiert als das postoperative Ableben eines Studienteilnehmers auf der Grundlage einer schlechten Leberfunktion und dadurch begründetem oder damit verbundenem Organversagen innerhalb der betrachteten 3 postoperativen Monate.

Zur Anschaulichkeit wurden die verschiedenen Einteilungen des PHLF dieser Untersuchung in [Abbildung 4, Seite 27](#) systematisch dargestellt.

Die erhobenen Daten wurden kontinuierlich in eine Access-basierte Computer-Datenbank transferiert und mehrmals überprüft.



**Tabelle 1: Klassifikation chirurgischer Komplikationen.**

Wiedergabe des Originaltextes in Englisch aus Dindo et al. <sup>107</sup>

<b>Grade</b>	<b>Definition</b>
Grade I	Any deviation from the normal postoperative course without the need for pharmacological treatment or surgical, endoscopic, and radiological interventions Allowed therapeutic regimens are: drugs as antiemetics, antipyretics, analgetics, diuretics, electrolytes, and physiotherapy. This grade also includes wound infections opened at the bedside
Grade II	Requiring pharmacological treatment with drugs other than such allowed for grade I complications Blood transfusions and total parenteral nutrition are also included
Grade III	Requiring surgical, endoscopic or radiological intervention
Grade IIIa	Intervention not under general anesthesia
Grade IIIb	Intervention under general anesthesia
Grade IV	Life-threatening complication (including CNS complications)* requiring IC/ICU management
Grade IVa	Single organ dysfunction (including dialysis)
Grade IVb	Multiorgan dysfunction
Grade V	Death of a patient

Suffix "d" If the patient suffers from a complication at the time of discharge (see examples in Table 2), the suffix "d" (for "disability") is added to the respective grade of complication. This label indicates the need for a follow-up to fully evaluate the complication.

\*Brain hemorrhage, ischemic stroke, subarachnoidal bleeding, but excluding transient ischemic attacks. CNS, central nervous system; IC, intermediate care; ICU, intensive care unit.

**Tabelle 2:** Wiedergabe der übereinstimmenden Definition und Schweregrade-Einteilung des Posthepatektomie-Leberversagens (Posthepatectomy liver failure, PHLF) der International Study Group of Liver Surgery (ISGLS) in Englisch<sup>20</sup>

---

**Definition** A postoperatively acquired deterioration in the ability of the liver (in patients with normal and abnormal liver function) to maintain its synthetic, excretory, and detoxifying functions, characterized by an increased INR (or need of clotting factors to maintain normal INR) and hyperbilirubinemia (according to the normal cut-off levels defined by the local laboratory) on or after postoperative day 5. If INR or serum bilirubin concentration is increased preoperatively, PHLF is defined by an increasing INR (decreasing prothrombin time) and increasing serum bilirubin concentration on or after postoperative day 5 (compared with the values of the previous day). Other obvious causes for the observed biochemical and clinical alterations such as biliary obstruction should be ruled out.

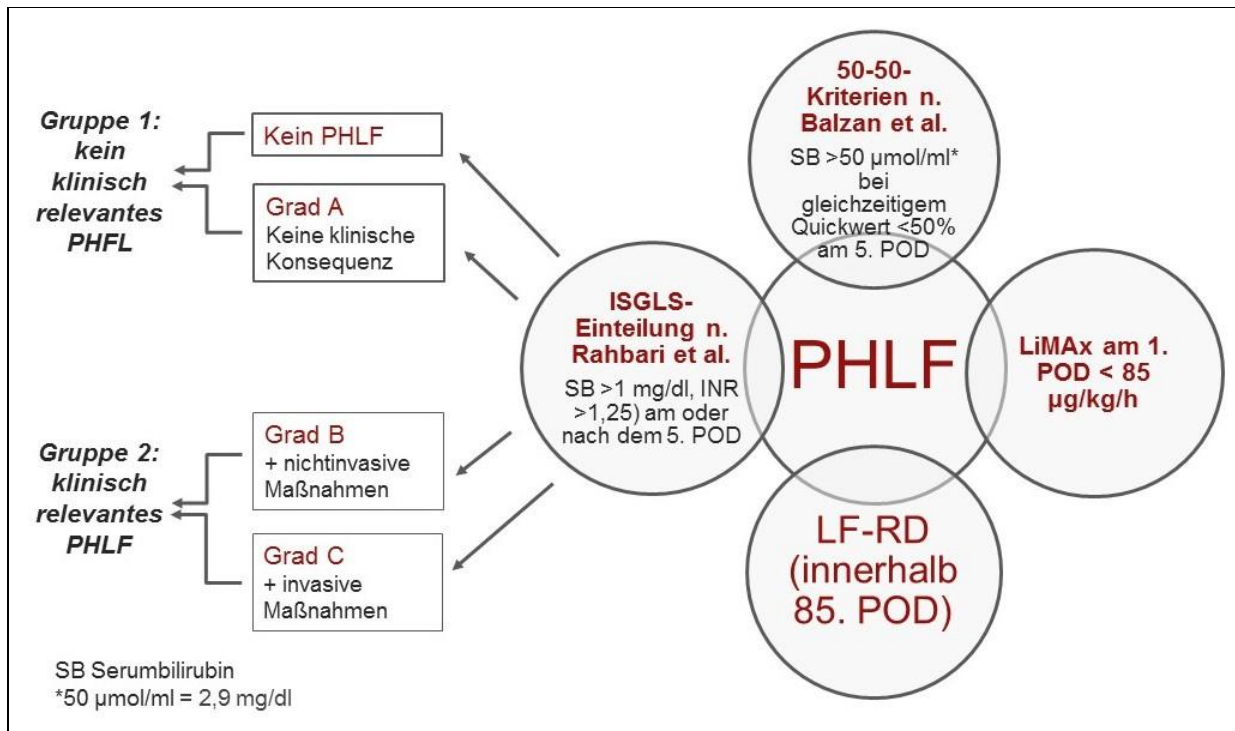
---

**Grade**

- A** PHLF resulting in abnormal laboratory parameters but requiring no change in the clinical management of the patient.
- B** PHLF resulting in a deviation from the regular clinical management but manageable without invasive treatment.
- C** PHLF resulting in a deviation from the regular clinical management and requiring invasive treatment.
- 

Anmerkung zur Einteilung des PHLF nach der ISGLS: Patienten, die ein PHLF Grad A entwickeln, fallen nicht durch klinische Symptome auf und erfordern keine weitere Diagnostik. Treten neben den abnormen Laborparametern klinische Symptome wie Aszites, Gewichtszunahme, eine milde respiratorische Insuffizienz oder hepatische Enzephalopathie hinzu, die mittels nicht-invasiver Diagnostik (Sonografie, CT, Röntgen, Sputum-, Blut- oder Urinkulturen) und nicht-invasiven therapeutischen Maßnahmen (Gabe von FFP, Albumin oder Diuretika; intensivstationäre Überwachung, nichtinvasive Ventilation) behandelt werden können, entspricht dies nach den Kriterien der ISGLS einem PHLF Grad B. Ein PHLF Grad C erfordert invasive Maßnahmen: Dies beinhaltet

den Einsatz von vasoaktiven Medikamenten, Hämodialyse, Intubation mit mechanischer Ventilation, extrakorporale Leberunterstützungssysteme, Relaparotomien oder eine Organtransplantation.



**Abbildung 4: Einteilung des postoperativen Outcomes in dieser Untersuchung.**

### 3.2 Patientenkollektiv

An der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie der Charité-Universitätsmedizin Berlin finden durchschnittlich 300 Leberteilresektionen pro Jahr statt. Neben zahlreichen präoperativen Untersuchungen bezüglich der Operations- und Narkosefähigkeit wird für die Einschätzung der Tumorsektabilität im Rahmen der Operationsplanung ein LiMAX-Test durchgeführt. Sein Ergebnis zeigt die aktuelle Leberfunktionskapazität an und lässt im Zusammenhang mit dem geplanten Operationsausmaß eine Einschätzung des postoperativen Outcomes zu (siehe [Abschnitt 3.4.2](#))<sup>9</sup>.

Auf der Grundlage dieser Untersuchungsergebnisse erfolgte das Screening hinsichtlich geeigneter Studienpatienten (siehe Ein- und Ausschlusskriterien).

### **3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien**

#### Einschlusskriterien

1. Männliche oder weibliche Patienten, die für eine Leberteilresektion vorgesehen sind
2. Patienten, die älter 18 Jahre waren
3. Patienten, die ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie gegeben haben

#### Ausschlusskriterien

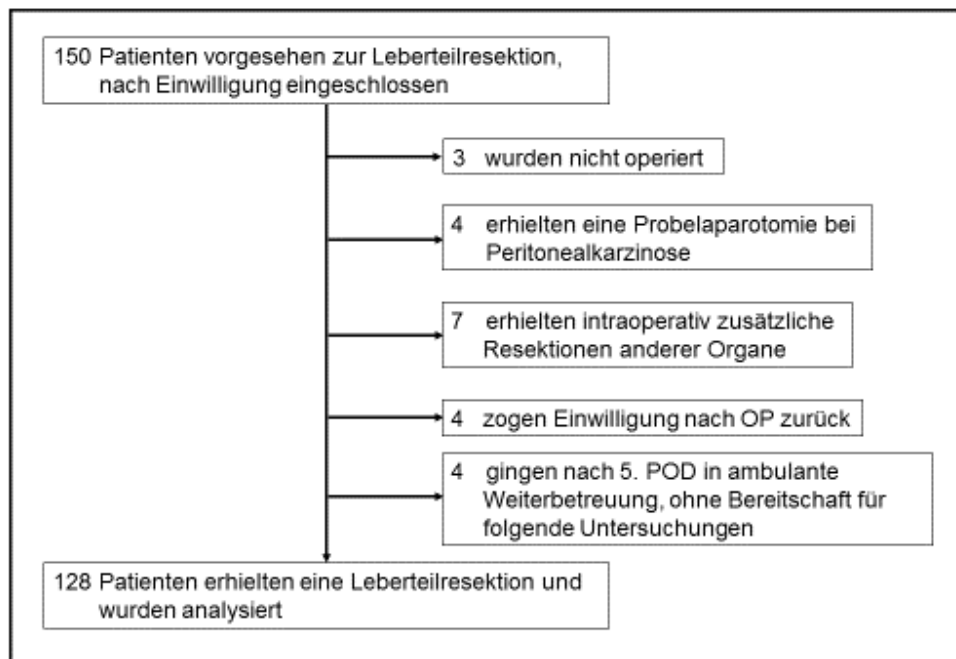
1. Eine fortgeschrittene Lebererkrankung (Leberzirrhose bzw. präoperativer LiMAX-Wert  $<311 \mu\text{g/kg/h}$ )
2. Patienten, die bereits an der Leber operiert worden sind (eine Cholezystektomie zählt nicht als Ausschlusskriterium)
3. Eine Chemotherapie innerhalb von 4 Wochen vor dem Eingriff
4. Einnahme von Medikamenten, die den Serumspiegel von Wachstumsfaktoren beeinflussen (Cortisol, Wachstumshormone, Antikörper)
5. Dialysepflichtige Niereninsuffizienz
6. Patienten mit einer schweren Infektionskrankheit
7. Patienten, die bereits eine Organtransplantation erhalten haben
8. Jegliche Faktoren, die die Fähigkeit des Patienten einschränken, während der Studie zu kooperieren (z.B. mentale Funktion oder Drogenmissbrauch)
9. Schwerer, nicht eingestellter Diabetes mellitus

### **3.2.2 Ablauf des Studieneinschlusses**

Zum Zeitpunkt der präoperativen Patientenvorstellung fand im Falle des Zutreffens der Einschluss- und in Abwesenheit der Ausschlusskriterien ein Gespräch zwischen Prüfarzt und Patient/in im Beisein von Doktoranden statt. Die potentiell teilnehmenden Patienten

wurden zu diesem Zeitpunkt ausführlich mündlich und schriftlich über den Ablauf der Studie, die medizinische Fragestellung, Vor- und Nachteile sowie Nutzen und Risiken der Studienteilnahme aufgeklärt. Sobald ein Patient nach ausreichender Bedenkzeit schriftlich sein Einverständnis erklärt hatte, erfolgte die Studienaufnahme.

Auf diese Weise wurden 150 Personen in die vorliegende Untersuchung eingeschlossen. 23 Patienten konnten aus unterschiedlichen Gründen nicht in die statistische Auswertung einbezogen werden. Diese Dropout-Fälle sind in *Abbildung 5* dargestellt. Gründe für den Ausschluss an der Studienteilnahme nach Studieneinschluss waren beispielsweise das Ausbleiben der Operation, der Abbruch der geplanten Leberteilresektion nach Probelaparotomie bei Feststellung einer Peritonealkarzinose oder eine unerwartete Ausdehnung der Operation über eine Leberteilresektion hinaus (z. B. Leberteilresektion mit Hemikolektomie und oder pyloruserhaltender Pankreaskopfresektion). Vier Teilnehmer zogen die Studieneinwilligung direkt nach der Operation zurück. Im Falle von vier Personen erfolgte eine frühe stationäre Entlassung nach dem 5. postoperativen Tag, wobei keine Bereitschaft für weitere Untersuchungen bestand. Schließlich wurden für die vorliegende Studie die Daten von 128 Patienten ausgewertet.



**Abbildung 5: Übersicht über den Studieneinschluss und die ausgeschlossenen Patienten**

### **3.3 Ablauf der Datenerhebung**

In folgenden Abschnitten soll der Ablauf der Datenerhebung beschrieben werden.

#### **3.3.1 Studienprotokoll**

Alle Untersuchungen und Messungen am Patienten erfolgten nach einem vorgegebenen Studienprotokoll (siehe [Tabelle 3, Seite 31](#)).

Im Rahmen der präoperativen Evaluierung bezüglich der Studienteilnahme, 6 Stunden nach der Operation sowie am 1., 2., 3., 5., 10., 14. und 90. postoperativen Tag (Postoperative day, POD) wurde die Leberfunktionskapazität mittels des <sup>13</sup>C-Methacetin-Atemtests (LiMAx) und des Indocyaningrün-Tests (ICG-Test) bestimmt sowie eine sonografische Kontrolle des Volumenflusses der Pfortader zur Einschätzung der kontinuierlichen Leberdurchblutung durchgeführt. Außerdem wurde zeitgleich zu den Messungen Blut entnommen, um Standardlaborwerte und oben genannte Wachstumsfaktoren zu bestimmen.

Alle Patienten wurden gemäß dem klinischen Standard behandelt. Operative Techniken und intraoperatives Management erfolgte analog den bisher beschriebenen Standards der Leberchirurgie<sup>32,108</sup>.

Zu jedem der oben genannten Zeitpunkte wurden die Patienten anhand einheitlicher Case Report Forms (CRFs) körperlich untersucht, zu ihrem Befinden befragt und die Messungen sowie der postoperative Verlauf dokumentiert. Intraoperativ wurde für spätere Analysen circa 3 g makroskopisch gesundes Lebergewebe aus dem resezierten Leberanteil gewonnen und sofort kryokonserviert.

Nach dem 90. postoperativen Tag (3 Monate) fanden im Rahmen der Studie keine zusätzlichen Nachkontrollen statt.

**Tabelle 3:** Studienprotokoll, Abkürzungen siehe Verzeichnis

Zeitpunkt Vorgehen	Prä- operativ	Intra- opera- tiv	6h	1.	2.	3.	5.	10.	14.	90.
			Postoperativer Tag							
Aufklärung & Einwilligung	X									
Stammdaten-CRF	X									
Messungs-CRF	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Leberfunktions- tests (LiMAx, ICG)	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Sonografische Pfortader- volumenfluss- messung	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Standardlabor*	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Wachstumsfaktoren **	X		X	X	X	X	X	X	X	X
Lebergewebe 3g		X								

Labor	Material	Blutparameter
*Standardlabor	Klinische Chemie	Kreatinin, Harnstoff, Natrium, Kalium, Bilirubin (gesamt und konjugiert), ALT, AST, AP, $\gamma$ -GT, GLDH, PCHE, Ammoniak, Glucose, Albumin, Triglyceride, Cholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin
	Blutbild	kleines Blutbild
	Endokrinologie	GH, IGF-1, Insulin, C-Peptid
	Gerinnung	Quick, INR, Faktor II, Faktor VII
**Wachstumsfaktoren	Klinische Chemie	3 Serumröhrchen (á 5ml): Aufarbeitung laut Protokoll (siehe Abschnitt 3.4.1.1)

### **3.4 Messverfahren**

Im Folgenden wird auf oben erwähnte Messverfahren, die der Aufklärung der zentralen Fragestellung dienen, eingegangen.

#### **3.4.1 Bestimmung der Serumspiegel verschiedener Laborwerte**

Neben der Bestimmung konventioneller Laborwerte durch das lokale Labor der Charité wurden übereinstimmend mit den im Studienprotokoll aufgeführten Laborparametern die Serumspiegel verschiedener Zytokine und Wachstumsfaktoren durch das Verfahren eines Immunoassays ermittelt.

##### **3.4.1.1 Bestimmung von HGF**

Die HGF Serumspiegel wurden mittels Quantikine Human HGF Immunoassay (R&D Systems, Abingdon, UK) gemäß Protokoll der Firma (Katalognummer DHG00, SHG00, PDHG00; siehe Anhang [Abschnitt 7.1](#)) analysiert.

Für die Asservierung der Proben sollte das entnommene Blut zunächst koagulieren, bevor es bei 1000 g (Erdbeschleunigung g) für 10 Minuten zentrifugiert wird. Anschließend wird der als Serum bezeichnete Überstand vorsichtig mit einer Pasteurpipette abgenommen und bei -20°C in einem Eppendorfgefäß gelagert.

Der Enzyme-linked-Immunabsorbent-Assay (ELISA) erfolgt analog der Anleitung des Herstellers.

Hieraus ermittelte Ergebnisse wurden zur statistischen Analyse in die oben erwähnte Datenbank eingefügt.

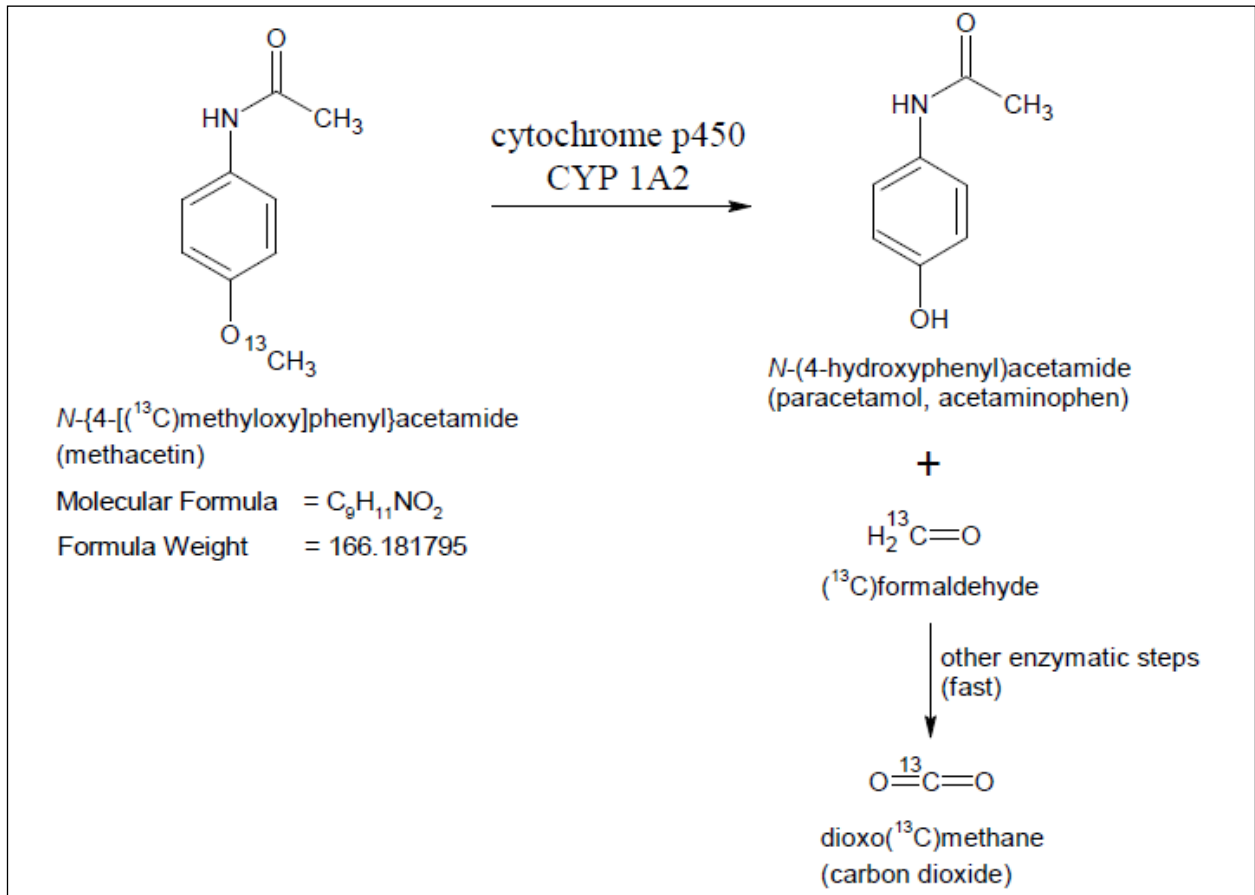
#### **3.4.2 Der LiMAx-Test**

Grundlage des LiMAx-Leberfunktionstests ist die spezielle hepatozelluläre Verstoffwechslung des <sup>13</sup>C-markierten, nicht radioaktivem Substrats Methacetin (Euriso-top, Saint-Aubin Cedex, France)<sup>109</sup>.

Methacetin wird unmittelbar nach Bolusinjektion durch das ubiquitär in der Leber vorkommende Enzym Cytochrom P450 1A2 der Hepatozyten zu Paracetamol und <sup>13</sup>C



demethyliert (siehe *Abbildung 6*). Letzteres wird während des Tests über die Lunge als  $^{13}\text{CO}_2$  abgeatmet und ist unverzüglich in einer kennzeichnenden Veränderung des normalen  $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses (Pee Dee Belemnite standard 1.1237%)<sup>111</sup> in der expiratorischen Luft messbar<sup>112</sup>.



**Abbildung 6: O-demethylierung von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin in der Leber durch das Cytochrom p450 Isoenzym CYP 1A2**<sup>112</sup>

### 3.4.2.1 Die Durchführung des LiMAx-Tests

In Vorbereitung für den  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Atemtest ist eine mindestens 6-stündige Nahrungs- und Nikotinkarenz des Patienten notwendig, um mögliche Beeinflussungen im Leberstoffwechsel und exogene  $^{13}\text{C}$ -Aufnahme zu vermeiden. Getränke ohne Glucose oder Kohlensäure stellen kein Problem dar. Vor Testbeginn erhält der Proband eine Venenverweilkanüle von mindestens 20 Gauge in eine Ellenbeuge, über welche die

spätere Injektion erfolgt. Die Nutzung eines zentralvenösen Zugangs ist ebenfalls möglich.

Der zu Untersuchende wird in liegender Position mittels einer Atemmaske an das Analysegerät, ein isotopenselektives nicht-dispersives Infrarotspektrometer (NDIRS, FANci, FAN GmbH, Leipzig; Das Gerät ist als Medizinprodukt CE-zertifiziert; Siehe [Abbildung 7, Seite 35](#)) angeschlossen. Nach Bestimmung des Ruhe-Verhältnisses von  $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft (sogenannte Baseline) wird 2 mg/kg Körpergewicht  $^{13}\text{C}$ -Methacetinlösung intravenös appliziert. Die Injektion sollte im Bolus erfolgen und wird anschließend mit 10 ml Natriumchlorid nachgespült. Die Konzentration des in der Leber entstehenden  $^{13}\text{CO}_2$  sowie des daneben abgeatmeten  $^{12}\text{CO}_2$  (und damit das Verhältnis von  $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$ ) wird online, in definierten Zeitabständen in der expiratorischen Luft mittels Infrarotspektrometer für insgesamt 60 Minuten gemessen (Versuchsaufbau siehe [Abbildung 8, Seite 35](#)).

Die Leberfunktionskapazität wird aus der kinetischen Analyse des  $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses berechnet. Dabei ergibt sich aus der Differenz zwischen dem Maximum des  $^{13}\text{CO}_2 : ^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses im Verlauf der Messung und der ermittelten Baseline (Delta-over-baseline,  $\text{DOB}_{\text{max}}$ ) der LiMAX-Wert nach folgender Formel:

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

( $\text{R}_{\text{PDB}}$ , Pee Dee belemite limestone-Verhältnis [ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}=0,011237$ ]; P,  $\text{CO}_2$ -Produktionsrate [ $300 \text{ mmol/h} \cdot \text{Körperoberfläche in m}^2$ ]; M, Molekulargewicht von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin; BW, Körpergewicht in kg) <sup>112</sup>

Anhand der Messungen an gesunden Probanden konnte festgestellt werden, dass LiMAX-Werte zwischen 311 und 575  $\mu\text{g/kg/h}$  und ein Maximum der  $^{13}\text{CO}_2$ -Ausscheidung  $10 \pm 6 \text{ min}$  nach Injektion einer normalen Leberfunktion entsprechen.

Ein LiMAX-Wert über 311  $\mu\text{g/kg/h}$  wird hierbei einer gesunden Leberfunktionskapazität gleich gesetzt. Ein postoperatives Leberversagen ist definiert als ein postoperativer Atemtestwert unter 85  $\mu\text{g/kg/h}$  am 1. POD<sup>9,113</sup>.

Keine der LiMAX-Messungen wurde während einer Hämodialyse durchgeführt, da das unter Umständen zu einem verminderten Methacetin-Metabolismus in der Leber führen könnte.



Abbildung 7: NDIRS-Messgerät FANci2db16., FAN GmbH, Leipzig

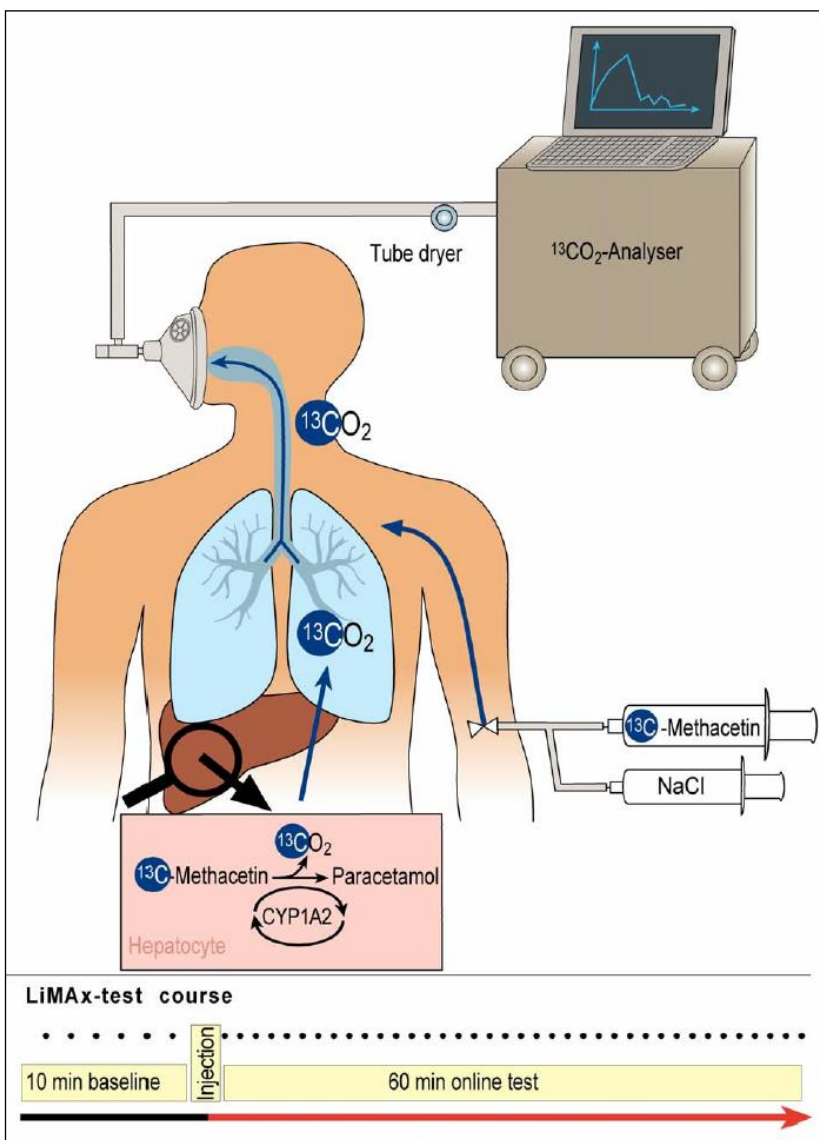


Abbildung 8: Schematischer Gesamtaufbau der Online-Messung.

*Während der ersten 10 min vor der Injektion des  $^{13}\text{C}$ -Methacetins werden Baseline-Werte gemessen. Anschließend wird 2 mg/kg Körpergewicht  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Lösung als Bolus in einen intravenösen Katheter injiziert und mit 20 ml Natriumchlorid (0,9%) nachgespült.  $^{13}\text{C}$ -Methacetin wird durch das Cytochrom P450 1A2 System der Hepatozyten metabolisiert und in Paracetamol und  $^{13}\text{CO}_2$  umgewandelt. Letzteres wird über die Lunge abgeatmet. Innerhalb von 60 min nach der Injektion werden automatisch kontinuierlich 40 Atemproben gewonnen und bezüglich ihres  $^{13}\text{CO}_2$  :  $^{12}\text{CO}_2$  - Verhältnisses analysiert<sup>9</sup>.  
Tube dryer = Wasserdampfaustauscher*

### **3.5 Statistik**

Die Daten wurden mit Hilfe der Software SPSS© (Statistical Package of Social Science, IBM©, Copyright 1989, 2012 SPSS Inc) Version 21.0 statistisch ausgewertet. Die Darstellung der Daten erfolgte, wenn nicht anders erwähnt, als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung (SD) oder Medianwerte mit 25%- und 75%-Quartilen [Range]. Nominale Variablen wurden als Häufigkeiten (n) und in Prozent (%) vom gesamten Patientenkollektiv (n=128; 100%) angegeben.

In dieser Studie soll der prädiktive Wert der prä- und postoperativen Serumspiegel von HGF auf das postoperative Leberversagen (PHLF) und den Leberversagen- assoziierten Tod (LFRD) im Verlauf nach einer Leberteilesektion am Menschen untersucht werden. Hierzu werden folgende Analysen angestellt: Es erfolgten Kurvenvergleiche der Wachstumsfaktor-Serumspiegel zwischen den jeweiligen Untergruppen des postoperativen Outcomes (siehe [Abschnitt 3.1.1](#) Einteilung des postoperativen Outcomes). Dazu wurden abhängig von der Normalverteilung der Stichprobe T-Tests und nichtparametrischen Tests für unabhängige Stichproben in Form des Mann-Whitney-U-Tests im Sinne einer univariaten Analyse bezüglich des postoperativem Outcomes und möglicher Einflussfaktoren wie dem HGF-Serumspiegel durchgeführt. Unterschieden sich Faktoren hierbei signifikant in den Gruppen, wurden sie in eine multivariate logistische Regressionsanalyse eingeschlossen. Dabei wurde in allen Fällen nach dem Verfahren „schrittweise vorwärts“, „schrittweise rückwärts“ und „Einschluss“ vorgegangen.

Ferner wurde zur Einschätzung der diskriminatorischen Fähigkeiten der Wachstumsfaktoren eine Receiver-Operating-Characteristic/Area under the curve-

Analyse (ROC-AUC-Analyse) durchgeführt. Hierbei wird die Korrelation zwischen den HGF-Serumspiegeln und den dichotomen Variablen PHLF, eingeteilt nach Balzan (50-50-Kriterien), den ISGLS-Kriterien (aufgeteilt in die Gruppen 1) und 2)), des LiMAX-Testergebnisses am 1. POD sowie gegenüber dem LF-RD (ja oder nein) näher untersucht. Auf dieser Grundlage konnten mittels des statistischen Verfahrens des Youden-Index Schwellenwerte (Cutoffs) für die postoperativen Messzeitpunkte mit der jeweiligen Sensitivität und Spezifität ermittelt werden. Anschließend wurden durch Kreuztabellen der positive (PPW) und negative prädiktive Wert (NPW) berechnet.

Das Signifikanzniveau aller statistischen Tests wurde zweiseitig bei  $p \leq 0,05$  festgelegt.

Um im Sinne der Fragestellung den frühen postoperativen Verlauf zu untersuchen, bezieht sich die statistische Auswertung auf den Zeitraum zwischen dem präoperativen Messzeitpunkt und dem 10. POD analog des Studienprotokolls.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Patientencharakteristika

In die vorliegende Untersuchung wurden 128 Personen eingeschlossen. In [Tabelle 4, Seite 39](#) sind die Basischarakteristika der 128 Personen dargestellt. Das Alter aller Patienten lag im Durchschnitt bei 63 Jahren mit einer Spannweite von 21 bis 80 Jahren. 38 Personen (30%) waren weiblich und 90 (70%) Personen männlich.

Bei den häufigsten Tumorentitäten dieser Studienpopulation handelt es sich um kolorektale Lebermetastasen (n=35), Klatskin-Tumore (n=34), cholangiozelluläre (n=21) sowie hepatozelluläre Karzinome (n=15). Patienten mit gutartigen Raumforderungen wie das Leberadenom (n=6), Hämangiom (n=1) oder die Fokale noduläre Hyperplasie (n=1) wurden seltener eingeschlossen. Daneben kommen Patienten mit selteneren Diagnosen wie einer Echinokokkuszyste, einem fokalen Caroli-Syndrom oder einer Metastase eines Melanoms, Ovarial-, Prostata-, Urothel- und Thymuszell-Karzinoms vor.

Präoperativ litten die meisten Studienteilnehmer nach der American Society of Anesthesiologists-Einteilung (ASA-Score)<sup>114</sup> an leichten (38%) oder schweren (52%) Allgemeinerkrankungen. 6% der Patienten waren gesund und 4% hatten schwere lebensbedrohliche Krankheiten. Die erweiterte Hemihepatektomie rechts (n=47) ist die am häufigsten durchgeführte Operation der untersuchten Leberteileresektionen. Hierauf folgt die Hemihepatektomie rechts (n=32), die Hemihepatektomie links (n=22), die erweiterte Hemihepatektomie links (n=14) und die atypischen Resektionen einzelner Lebersegmente (n=13). Während 70% der Operationen wurde die Blutzufuhr der Leber durch ein Pringle-Manöver mit einer durchschnittlichen warmen Ischiämiezeit von 20 Minuten unterbunden.

**Tabelle 4: Patientencharakteristika, Deskriptive Statistik soziodemographischer und klinischer Charakteristika; Median [25.- 75. Perzentile]; n (%)**

<b>Parameter</b>	<b>128 Patienten</b>
Alter (Jahre)	63 [53-72]
Geschlecht (weiblich/männlich)	38/90
Body Mass Index	25 [23-28]
<b>Tumoräthiologie</b>	
Kolorektale Lebermetastasen	35 (27,3%)
Klatskin-Tumor	34 (26,6%)
Cholangiozelluläres Karzinom	21 (16,4%)
Hepatozelluläres Karzinom	15 (11,7%)
Lebermetastasen sonstige*	11 (8,6%)
Leberadenom	6 (4,7%)
Unspezifische Entzündung des Ductus hepaticus communis	2 (1,6 %)
Echinokokkuszyste	1 (0,8%)
Leberhämangiom	1 (0,8%)
Fokale noduläre Hyperplasie	1 (0,8%)
Caroli-Syndrom	1 (0,8%)
<b>Operationsausmaß</b>	
Hemihepatektomie rechts	32 (25,0%)
Hemihepatektomie links	22 (17,2%)
Erweiterte Hemihepatektomie rechts	47 (29,7%)
Erweiterte Hemihepatektomie links	14 (11,0%)
Atypische Resektionen	13 (10,4%)
<b>ASA- Score</b>	
1: Normaler, gesunder Patient	8 (6,3%)
2: Patient mit leichter Allgemeinerkrankung	49 (38,3%)
3: Patient mit schwerer Allgemeinerkrankung	66 (51,6%)
4: Patient mit schwerer Allgemeinerkrankung, die eine	5 (3,9%)

---

ständige Lebensbedrohung ist	
5: moribunder Patient, der ohne Operation voraussichtlich nicht überleben wird	0 (0 %)
6: hirntoter Patient, dessen Organe zur Organspende entnommen werden	0 (0 %)

---

\*Lebermetastase sonstige umfasst Metastasen folgender Primärtumore (jeweils n=1): Ovarial-Karzinom, Urothelkarzinom der Harnblase, Prostata-Karzinom, Siegelringkarzinom und Glomustumor des Magens, Neuroendokriner Tumor des terminalen Iliums, Chondrosarkom, Thymuszell-Karzinom, atypisches Karzinoid der Lunge, Cancer of Unknown Primary-Syndrom, Melanom

## 4.2 Komplikationen/Morbidität

82 Patienten (64%) hatten einen unauffälligen postoperativen Verlauf (Komplikation  $\leq$  Grade II, vgl. [Tabelle 1, Seite 25](#): Klassifikation chirurgischer Komplikationen nach Dindo et al.) bei einer durchschnittlichen stationären Liegedauer von 14 Tagen [6-38]. Im postoperativen Verlauf schwere Komplikationen (Komplikationen  $\geq$  Grade IIIa) erlitten 46 Personen (36%). Sie waren durchschnittlich 30 Tage [8-70] hospitalisiert. Näheres zu den häufigsten Komplikationen dieser Studienpopulation siehe [Tabelle 5, Seite 40](#).

Die in dieser Studie verwendeten Einteilungen eines Leberversagens nach Leberteileresektion ergaben folgende Ergebnisse: Laut der 50-50-Kriterien-Definition nach Balzan<sup>22</sup> erlitten fünf von 128 Patienten ein postoperatives Leberversagen. Vier der fünf Patienten verstarben im Krankenhaus. Bei Anwendung der Schweregrad-Einteilung der ISGLS<sup>20</sup> gestaltete sich der postoperative Verlauf bei 95 Personen (74,2%) unauffällig (kein PHLF). Ein postoperatives Leberversagen trat bei 33 Patienten (26%) auf. In acht Fällen (6,3%) von diesen 33 Patienten zeigten sich keine klinischen Symptome (PHLF Grad A). Ein PHLF Grad B entwickelten drei Patienten (2,3%). Invasive Maßnahmen zur Behandlung eines PHLF Grad C waren bei 22 Patienten (17,2%) notwendig.

Der LiMAx-Wert lag bei 19 Patienten unter dem Cutoff von 85  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  am 1. POD, der von Stockmann et al. als prognostisch signifikanter Wert für das postoperative Leberversagen publiziert wurde<sup>9</sup>.



**Tabelle 5: Komplikationen nach Leberteilresektion bei 128 Patienten.**

Aufgelistet in einzelne Komplikationen\*, Komplikationen nach der Klassifikation chirurgischer Komplikationen nach Dindo et al.<sup>107</sup>, PHLF nach 50-50-Kriterien nach Balzan et al.<sup>22</sup> sowie PHLF nach der Schweregrad-Einteilung der ISGLS nach Rahbari et al.<sup>20</sup>. Angegeben und absoluter Anzahl und Prozent von Gesamtpopulation.

\*(Mehrfachkomplikationen bei einem Studienteilnehmer möglich)

<b>Komplikationen</b>		<b>Anzahl</b>	<b>Prozent %</b>
<b>Einzelne</b>	Pleuraerguss insgesamt	22	17,2
	Pleuraerguss, drainiert	13	10,1
	Gallenleckage insgesamt	20	15,6
	Gallenleckage, punktiert	10	7,8
	Relaparotomie	16	12,6
	Cholangitis	14	11,0
	Punktionswürdiger Verhalt/Abszess	11	8,6
	Aszites, diuretikabedürftig	9	7,0
	Platzbauch	9	7,0
	Wundheilungsstörungen	8	6,2
	Sepsis	6	4,7
	Nachblutung	5	3,9
	Pfortaderthrombose	3	2,3
	Leberarterienverschluss	1	0,8
	Portale Hypertension mit therapeutischem		
	Milzarterienverschluss	3	2,3
	Peritonitis	2	1,6
	Ileus	1	0,8
	Lymphfistel	1	0,8
<b>Klassifikation</b>			
<b>nach Dindo</b>	Keine	49	38,3
	Grad I	21	16,4
	Grad II	12	9,4
	Grad IIIa	22	17,2

Ergebnisse

	Grad IIIb	15	11,7
	Grad IV	5	3,9
	Grad V = Tod	4	3,1
<hr/>			
<b>PHLF nach 50-50-Kriterien</b>	Kein PHLF	123	96,1
	PHLF	5	3,9
<hr/>			
<b>PHLF nach ISGLS</b>	Kein PHLF	95	74,4
	PHLF Gr. A	8	6,3
	PHLF Gr. B	3	2,3
	PHLF Gr. C	22	17,2
<hr/>			
<b>PHLF laut LiMAX am 1. POD</b>	> 85 µg/kg/h	109	85,2
	< 85 µg/kg/h	19	14,8
<hr/>			

### 4.3 Mortalität

Im betrachteten Studienzeitraum von 3 Monaten verstarben vier Patienten (3,1%). Alle vier Patienten waren zum Zeitpunkt des Todes hospitalisiert. Bei drei Operationen handelte es sich um eine erweiterte Hemihepatektomie rechts und bei einer um eine Hemihepatektomie rechts. Die mediane Zeit bis zum Tod war 28,5 Tage [13-34]. In drei Fällen war eine Sepsis bei Multiorganversagen auf der Grundlage eines Leberversagens die Todesursache. Die Kreislaufinsuffizienz des vierten verstorbenen Studienteilnehmers war ebenfalls mit einer Leberfunktionsbeeinträchtigung (PHLF Grad C nach ISGLS Einteilung) bei ausgedehnten Pleuraergüssen mit anschließender respiratorischer Insuffizienz, Pneumonie und Endokarditis assoziiert. Alle vier verstorbenen Patienten erlitten ein PHLF Grad C nach der Einteilung der ISGLS. Jeder der vier Todesfälle erfüllten die 50-50-Kriterien und hatten ein LiMAX-Testergebnis von unter 85 µg/kg/h am 1. POD.

## 4.4 Prädiktiver Wert von HGF für Mortalität und Morbidität nach Leberteileresektion

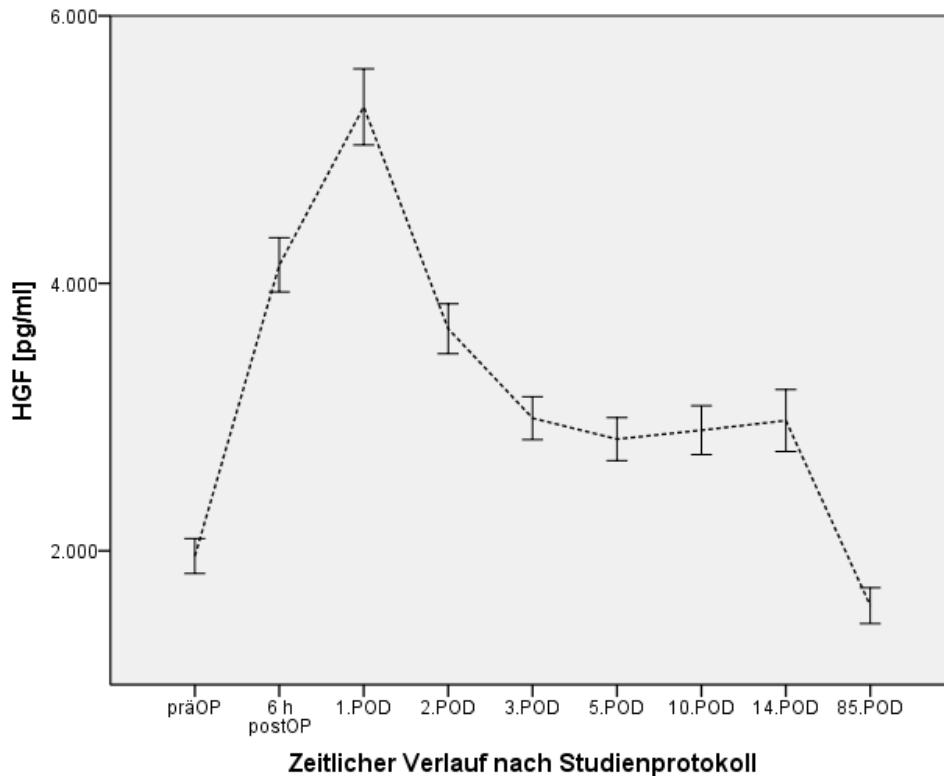
### 4.4.1 Serumspiegel von HGF im Verlauf nach einer Leberteileresektion

Die im Serum gemessenen Spiegel von HGF gemäß des Studienprotokolls werden in [Tabelle 6](#) dargestellt.

**Tabelle 6: Deskriptive Analyse der HGF-Serumspiegel in pg/ml aller 128 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten des Studienprotokolls.**

Dargestellt sind Mittelwert, Standardabweichung, Median, Minimum, Maximum und Standardfehler des Mittelwertes.

	HGF präOP	HGF 6 h postOP	HGF 1. POD	HGF 2. POD	HGF 3. POD	HGF 5. POD	HGF 10. POD	HGF 90. POD
N Gültig	126	124	128	126	125	124	115	58
Fehlend	2	3	0	2	3	4	13	70
Mittelwert	1961	4137	5319	3660	2992	2835	2902	1590
Std. Abweichung	1454	2256	3212	2085	1781	1783	1953	1015
Median	1681	3463	4499	3114	2385	2362	2425	1398
Minimum	63	1020	456	950	585	292	680	0
Maximum	11953	11382	17887	13657	10146	11476	13180	6668
Standardfehler des Mittelwertes	130	203	285	187	160	16	183	134



**Abbildung 9: HGF-Serumspiegel in pg/ml im Verlauf nach Leberteilresektion im gesamten Studienkollektiv.** Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt;  $n=128$ .

#### 4.4.2 Verlauf der Serumspiegel von HGF in Untergruppen des PHLF

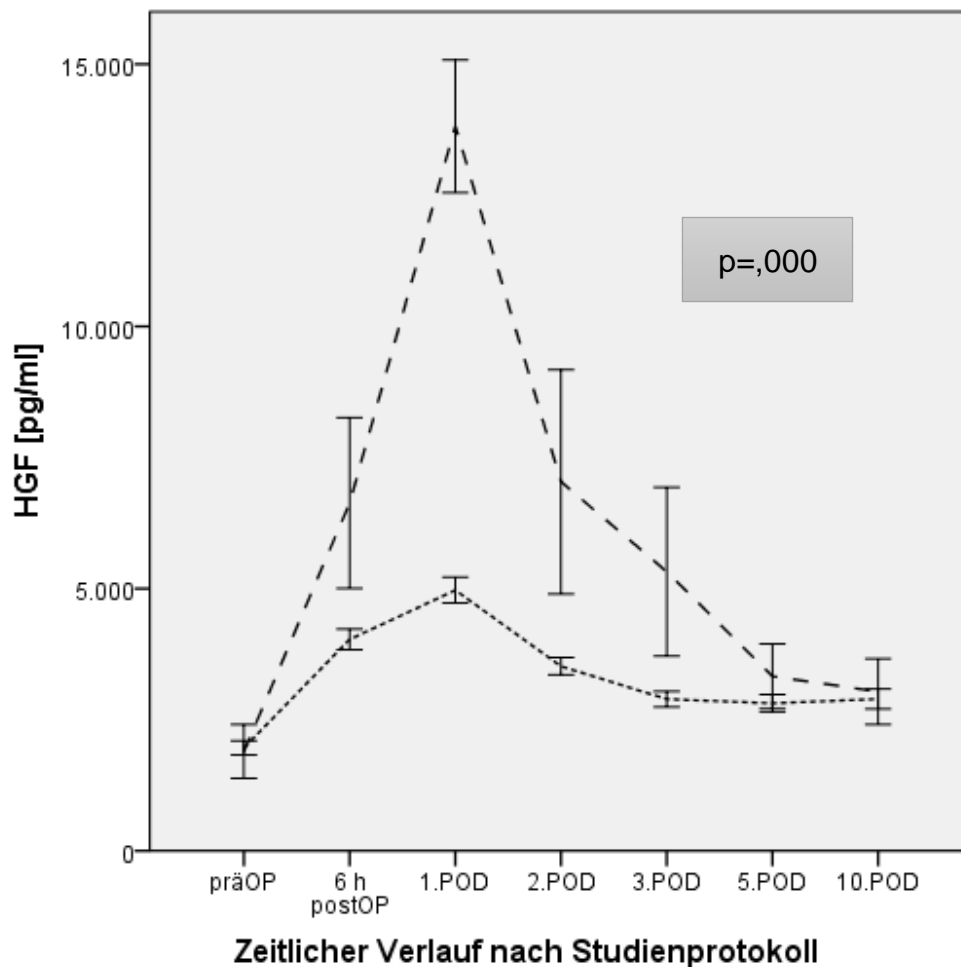
Im Folgenden werden die Verläufe der Serumspiegel des Wachstumsfaktors HGF innerhalb der Einteilungen eines PHLF nach den 50-50-Kriterien, nach der ISGLS-Einteilung und dem LiMax am 1. POD verglichen. Hierbei wird sich auf die Mittelwerte im Verlauf nach Leberteilresektion im Zeitraum vom präoperativen Messwert bis zum 10. POD bezogen.

##### 4.4.2.1 PHLF-Einteilung nach 50-50-Kriterien

###### Verlauf des HGF-Serumspiegels:

Während der HGF-Spiegel in der Gruppe der Patienten, die die 50-50-Kriterien nicht erfüllen ( $n=123$ ), von einem präoperativen Wert von 1959 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 133$ )

kontinuierlich bis auf einen Maximalwert von 4974 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 243$ ) am 1. POD ansteigt und dann langsam gegen Ausgangswert abfällt, steigt der HGF-Serumspiegel in der Gruppe der Patienten, die ein PHLF entwickeln ( $n=5$ ), durchschnittlich von 1894 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 513$ ) auf das bis zu 7,3-fache (13816 pg/ml; Standardfehler:  $\pm 1266$ ) am 1. POD an. Bis zum 5. POD fällt dieser Maximalwert steil ab und liegt in der PHLF-Gruppe am 10. POD über dem präoperativen Ausgangswert. Die beiden Kurven unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p=,000$ ).



**Abbildung 10: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt nach 50-50-Kriterien nach Balzan et al.** Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.

Legende: ..... Kein PHLF nach 50-50- Kriterien;  $n=123$   
 - - - - PHLF nach 50-50- Kriterien;  $n=5$

#### **4.4.2.2 PHLF-Einteilung nach ISGLS in Untergruppen kein PHLF, PHLF Grad A, PHLF Grad B und PHLF Grad C**

##### Verlauf des HGF-Serumspiegels:

Nach der Leberteilresektion steigt HGF in der Gruppe der Patienten, die laut Schweregrad-Einteilung der ISGLS kein PHLF entwickeln (n=95), im Durchschnitt um das 2,5-fache seines präoperativen Werts (Mittelwert: 1827 pg/ml; Standardfehler:  $\pm 127$ ) an und erreicht am 1. POD das Maximum von 4502 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 232$ ). Anschließend fällt der HGF-Spiegel bis zum 3. POD auf einen Wert von 2651,24 pg/ml (Standardabweichung:  $\pm 155$ ) ab und steigt dann minimal auf 2648 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 192$ ) am 10. POD an.

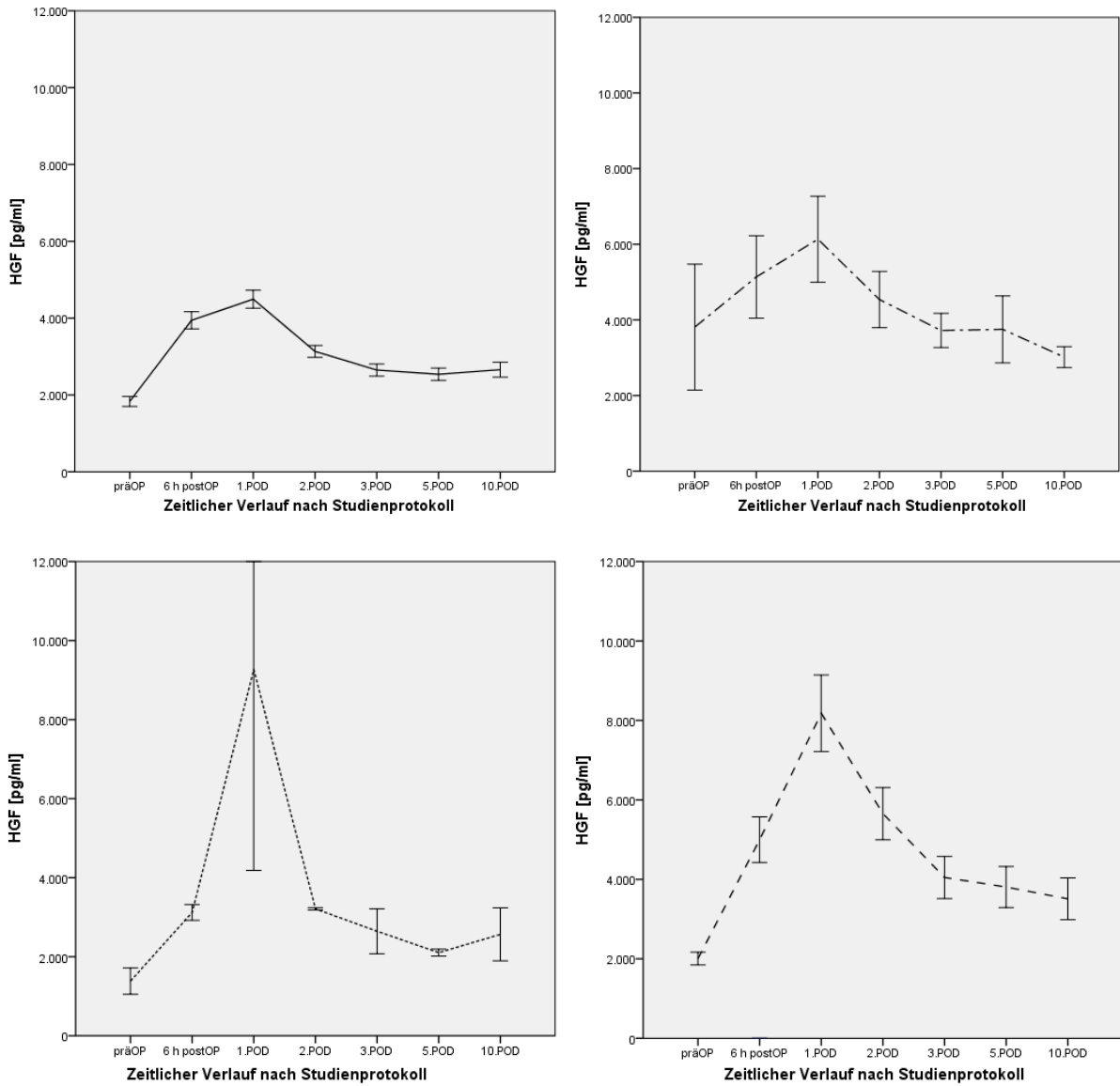
In der Gruppe der Studienteilnehmer, die am oder nach dem 5. POD abnorme Laborparameter aufweisen, klinisch jedoch keine Auffälligkeiten zeigen (PHLF Grad A; n=8) startet die Verlaufskurve von HGF bei einem Wert von 3342 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 1256$ ), steigt bis zum Maximalwert von 5947 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 983$ ) am 1. POD an und fällt bis zum 10. POD auf das Niveau des präoperativen Tags.

Der HGF-Serumspiegel in der Gruppe PHLF Grad B (n=3) liegt präoperativ bei 2015 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 659$ ), erreicht am 1. POD ein Maximum von 8547 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 3023$ ) und fällt bis zum 10. POD auf einen Wert von 4683 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 2152$ ).

Die Verlaufskurve des HGF-Serumspiegels der Patientengruppe PHLF Grad C (n=22) steigt präoperativ von 2006 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 160$ ) auf das rund 4-fache (Mittelwert: 8180,29 pg/ml; Standardfehler:  $\pm 964$ ) am 1. POD an. Zum 10. POD sinkt dieser Maximalwert auf 3510 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 525$ ) ab.

Jede der Kurven von Patientengruppen, die ein PHLF entwickeln (Grad A, B oder C) unterscheidet sich signifikant von der Kurve, die die Patientengruppe repräsentiert, die kein PHLF entwickeln ( $p = ,000$  für alle Vergleiche).

## Ergebnisse



**Abbildung 11: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt nach der Schweregrade-Einteilung PHLF der ISGLS. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.**

Legende: — Kein PHLF; n=95  
 — · — PHLF Grad A; n=8  
 ..... PHLF Grad B; n=3  
 - - - - PHLF Grad C; n=22

#### **4.4.2.3 PHLF-Einteilung nach ISGLS in Untergruppen Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF und Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF**

Bei dem Vergleich zwischen den Kurvenverläufe der zusammengeschlossenen Gruppen Gruppe 1 und 2 kommt es verglichen mit den vorher betrachteten Kurvenverläufen zu einem einheitlicheren Bild.

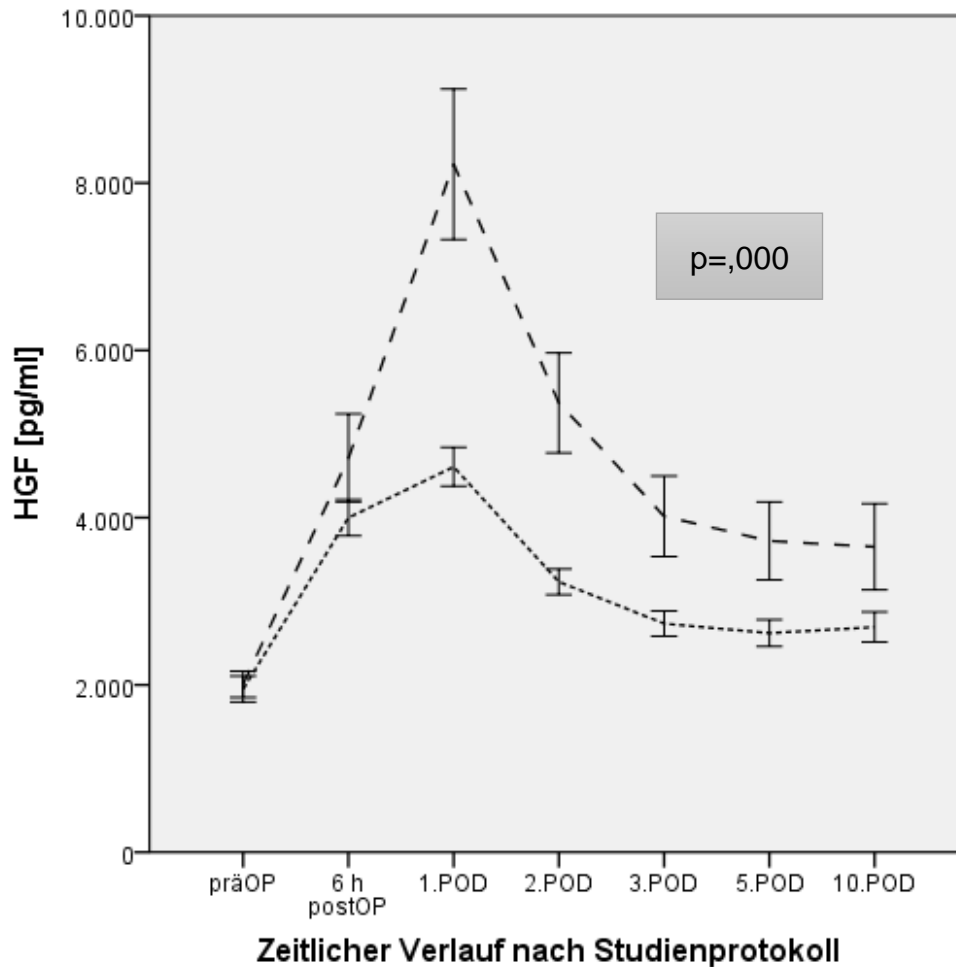
##### Verlauf des HGF-Serumspiegels:

In beiden Gruppen liegt der präoperative HGF-Serumspiegel bei durchschnittlich 2000 pg/ml. In der Patientengruppe, die einen unauffälligen postoperativen klinischen Verlauf aufweist (Gruppe 1: n=103; 80%), steigt HGF im Verlauf nach Leberteilresektion am 1. POD auf das Maximum von 4000 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 216$ ) an, um anschließend bis zum 10. POD auf 2681 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 178$ ) abzufallen.

Verglichen dazu steigt die HGF-Serumspiegel-Kurve der Patientengruppe, die ein klinisch relevantes PHLF entwickeln (Gruppe 2: n=25; 20%), zum 1. POD steil auf das durchschnittlich 4-fache des präoperativen Werts an (Mittelwert: 8224 pg/ml; Standardfehler:  $\pm 898$ ), fällt ebenfalls steil zum 3. POD auf einen Wert von 4015 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 481$ ) ab und sinkt dann langsamer auf 3651 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 514$ ) am 10. POD ab.

Die beiden Kurven unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p = ,000$ ).





**Abbildung 12: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt in Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF und Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF nach der PHLF-Schweregrade-Einteilung der ISGLS.** Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.

Legende: ..... Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF; n=103

- - - - Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF; n=25

#### 4.4.4.4 PHLF-Einteilung laut LiMax-Testergebnis am 1. POD

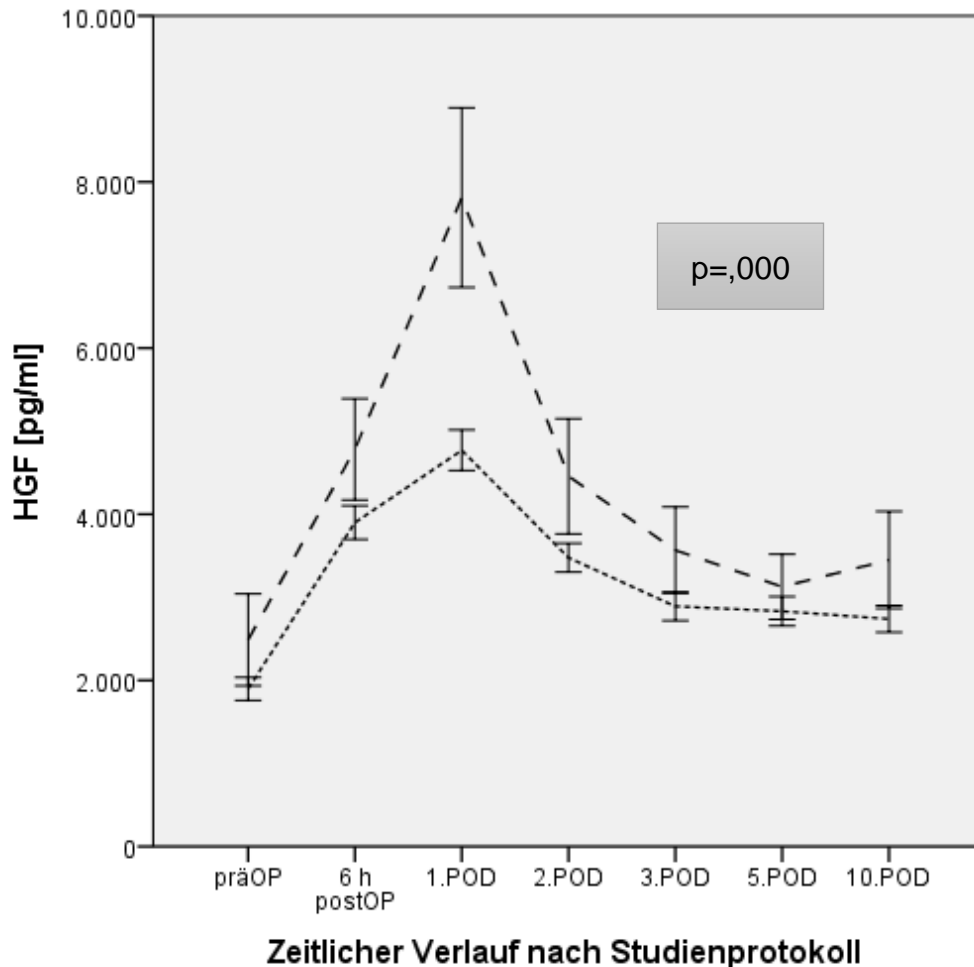
Zeigte der LiMax- Atemtest am 1. POD einen Ergebnis von  $<85 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  und damit ein PHLF an, wiesen die Patienten im Durchschnitt höhere HGF- Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion auf, verglichen mit den Patienten, die bessere Testergebnisse am 1. POD hatten.

Verlauf des HGF-Serumspiegels:

Präoperativ unterscheiden sich die HGF- Serumspiegel. In der Patientengruppe, in der die LiMAx- Messung am 1. POD kein PHLF anzeigt (n=109; 85%), stellt sich ein Ausgangswert von 1862 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 115$ ) dar. HGF steigt hier im Verlauf nach Leberteilresektion am 1. POD auf das Maximum von 4885 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 254$ ) an, um anschließend bis zum 10. POD auf 2781 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 183$ ) abzufallen.

Im Vergleich beginnt die HGF-Serumspiegel-Kurve der Patientengruppe, die laut LiMAx- Messung am 1. POD ein PHFL aufweist (n=19; 15%), bei 2488 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 554$ ) und steigt steil zum 1. POD auf 7810 pg/ml; Standardfehler:  $\pm 1081$ ) an. Anschließend zeigt sich ein HGF-Abfall zum 5. POD auf einen Wert von 3127 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 391$ ) und dann erneut ein leichter Anstieg auf 3449 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 584$ ) am 10. POD.

Die beiden Kurven unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p = ,001$ ).



**Abbildung 13: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt PHLF laut LiMAX am 1. POD.** Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.

Legende: ..... Kein PHLF laut LiMAX am 1. POD; n=109

- - - PHLF laut LiMAX am 1. POD; n=19

#### 4.4.3 Verlauf der Serumspiegel von HGF in Abhängigkeit der Entwicklung eines Leberversagen-assoziierten Todes: Vergleich zwischen verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten

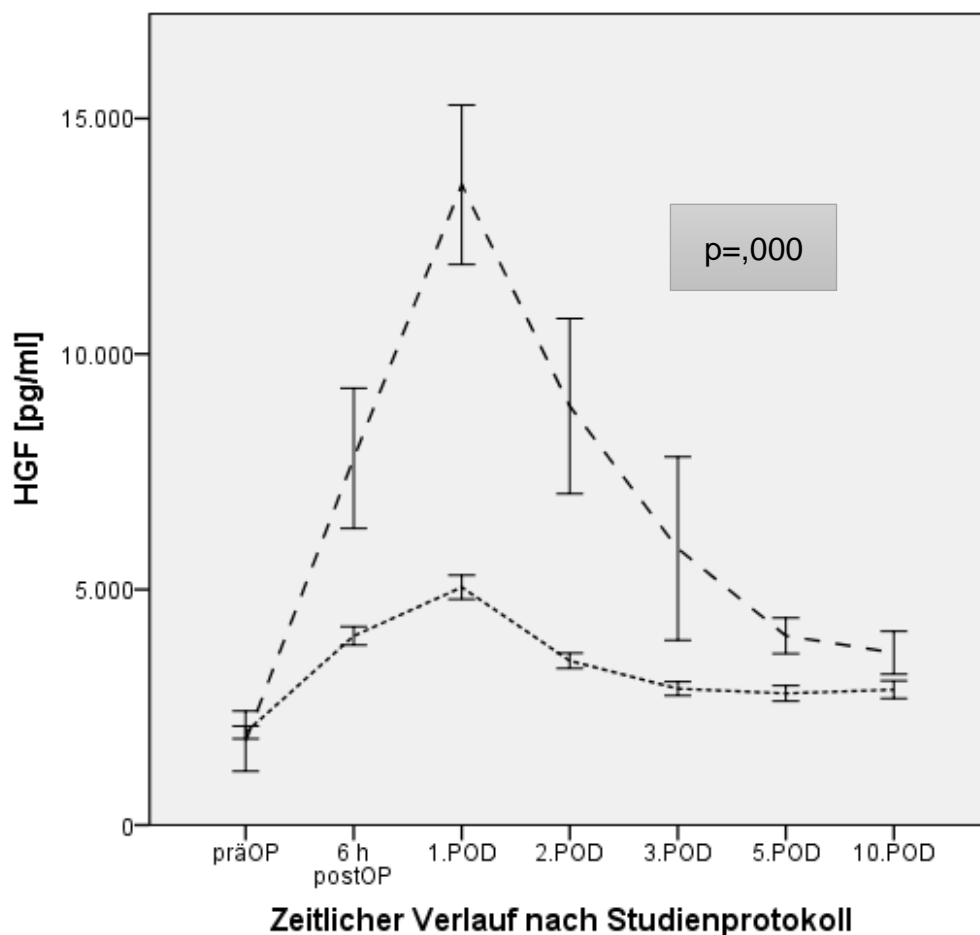
##### Verlauf des HGF-Serumspiegels:

In der Gruppe der nicht verstorbenen Patienten (n=124) liegt der präoperative HGF-Serumspiegel durchschnittlich bei 1962 pg/ml (Standardfehler: ±132). Der Wert steigt postoperativ an und erreicht am 1. POD ein Maximum von 5052 pg/ml (Standardfehler:

$\pm 253$ ). Anschließend fällt der HGF-Spiegel wieder ab und befindet sich am 10. POD mit einem Wert von 2864 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 187$ ) über dem Ausgangswert.

Verglichen damit steigt die Serumspiegelkurve der LF-RD-Gruppe (n=4) von einem präoperativen Wert von 1781 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 638$ ) steiler an und erreicht ihr Maximum bei 13595 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 1691$ ). Bis zum 10. POD fällt der HGF-Serumspiegel wieder auf durchschnittlich 3658 pg/ml (Standardfehler:  $\pm 455$ ) zurück.

Die beiden Kurven unterscheiden sich signifikant voneinander ( $p = ,000$ ).



**Abbildung 14: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt nach der LF-RD ja oder nein.** Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.

Legende: ..... Kein LF-RD; n=124

- - - LF-RD; n=4

#### 4.4.4 Univariate Analysen: Bedeutung des Wachstumsfaktors HGF im Vergleich zu anderen Parametern

Um die Einflussfaktoren und hierbei im Speziellen den HGF-Serumspiegel für die Entstehung eines PHLF oder des LF-RD zu untersuchen, wurden die aus der Literatur bekannten Einflussfaktoren in eine univariate Analyse aufgenommen.

Wie in [Tabelle 7](#) dargestellt gibt es in dieser Untersuchung bezüglich der HGF-Serumspiegel statistische Unterschiede zwischen den Patientengruppen, die postoperativ ein PHLF/LF-RD entwickeln oder einen unauffälligen Verlauf haben. Dabei fallen besonders die Werte des 1. POD's (respektive bis zum 10. POD beim PHLF der ISGLS-Einteilung und bis zum 2. POD beim LF-RD) auf.

**Tabelle 7: Univariate Analyse der Risikofaktoren für die Entwicklung eines PHLF (eingeteilt nach 50-50-Kriterien, nach ISGLS-Definition und laut LiMax am 1. POD) und eines LF-RD nach einer Leberteilresektion.**

Dargestellt sind p-Werte (univariate Signifikanz) und bei deren Signifikanz (fett gedruckt) die dazu gehörigen Baseline-Charakteristika.

Univariate Analyse					
Variablen	Gruppen	PHLF nach 50-50-Kriterien	PHLF nach ISGLS Gruppe 1: kein PHLF/ Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF	PHLF laut LiMax am 1.POD	LF-RD
		p	p	p	p
HGF präOP		,450	,280	<b>,039</b> 83- 11953 pg/ml	,770
HGF 6 h postOP		,160	,297	,316	<b>,020</b>
<b>HGF 1. POD</b>		<b>,002</b> 10033- 17887 pg/ml	<b>,001</b> 2374- 17887 pg/ml	<b>,016</b> 2015- 17887 pg/ml	<b>,014</b> 9685- 17887 pg/ml
HGF 2. POD		,083	<b>,002</b> 1801- 13657 pg/ml	,305	<b>,002</b> 5833- 13657 pg/ml
HGF 3. POD		,080	<b>,003</b> 1861- 10145 pg/ml	,139	,082
HGF 5. POD		,295	,005	,281	,027

Ergebnisse

HGF 10. POD	,546	<b>,014</b> 1080- 13179 pg/ml	,382	,065
Bilirubin total präOP	,157	<b>,000</b> 0,4- 12,8 mg/dl	<b>,005</b> 0,3- 12,8 mg/dl	<b>,029</b> 0,6- 12,8 mg/dl
Thrombozyten präOP	,796	,182	,539	,712
OP-Zeit	,458	<b>,000</b> 143- 570 min	,122	,089
FFP intraoperativ	,395	<b>,001</b> 0- 16	<b>,002</b> 0- 14	,050
Intraop. Ischämie	,329	,866	<b>,010</b> 0-55 min	,294
OP-Prozedur*	,691	,321	,413	,817
Resektatvolumen in ml	,132	<b>,001</b> 330- 1790 ml	<b>,022</b> 230- 1600 ml	,144
<b>Restlebertvolumen in ml</b>	<b>,009</b> <i>540-1600 ml</i>	<b>,002</b> <i>251- 1514 ml</i>	<b>,004</b> <i>376- 1352 ml</i>	<b>,031</b> <i>259- 422 ml</i>
<b>Restlebertvolumen in % von präOP Lebertvolumen</b>	<b>,041</b> <i>13- 49%</i>	<b>,000</b> <i>13-83%</i>	<b>,003</b> <i>13- 87%</i>	<b>,039</b> <i>13- 51%</i>
Alter	,212	,109	,135	,319
BMI	,383	,438	,520	,341

\*OP-Prozeduren: atypische Resektionen, Hemihepatektomie rechts, Hemihepatektomie links, erweiterte Hemihepatektomie rechts, erweiterte Hemihepatektomie links

#### 4.4.5 Multivariate Analysen

Die multivariaten Analysen ergaben jeweils konsistente Ergebnisse (vergleiche [Tabelle 8](#)).

**Tabelle 8: Multivariate logistische Regressionsanalyse der Risikofaktoren für die Entwicklung eines PHLF (eingeteilt nach 50-50-Kriterien, nach ISGLS-Definition und laut LiMAX am 1. POD) und eines LF-RD nach einer Leberteilresektion.**

Aufgeführt sind die signifikanten *p*-Werte der univariaten Analysen, die *p*-Werte der multivariaten logistischen Regression, in die alle Variablen eingeschlossen wurden und die Odds-Ratio (OR) mit 95% Konfidenzintervall (CI).

<b>Multivariate Analyse</b>				
	<b>Univariat p=</b>	<b>Multivariat p=</b>	<b>OR</b>	<b>95% CI</b>
<b>PHLF nach 50-50-Kriterien</b>				
HGF 1. POD	,002	,090	1,001	1,0- 1,003
Restlebervolumen in ml	,009	,328	,993	,980- 1,007
Restlebervolumen in % von präOP Lebervolumen	,041	,344	,830	,565- 1,221
<b>PHLF nach ISGLS</b>				
<b>Gruppe 1: kein PHLF/ Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF</b>				
<b>HGF 1. POD</b>	<b>,001</b>	<b>,035</b>	<b>1,0</b>	<b>1,0- 1,001</b>
HGF 2. POD	,002	,336	1,0	1,0- 1,001
HGF 3. POD	,003	,460	1,0	,999- 1,001
HGF 5. POD	,005	,156	1,0	1,0- 1,001
HGF 10. POD	,014	,954	1,0	,999- 1,001
Bilirubin total präOP	,000	,230	1,57	,752- 3,278
OP-Zeit	,000	,785	1,001	,992- 1,011
FFP intraoperativ	,001	,106	1,215	,959- 1,539
Resektatvolumen in ml	,001	,923	1,000	,991- 1,009
Restlebervolumen in ml	,002	,711	,999	,991- 1,006
Restlebervolumen in % von präOP Lebervolumen	,000	,561	,924	,709- 1,205

<b>PHLF laut LiMAx am 1. POD</b>				
<b>HGF präOP</b>	<b>,039</b>	<b>,016</b>	<b>1,000</b>	<b>1,0- 1,001</b>
HGF 1. POD	,016	,208	1,000	1,0- 1,0
Bilirubin total präOP	,005	,387	1,345	,687- 2,633
FFP intraoperativ	,002	,374	1,086	,905- 1,304
<b>Intraop. Ischämie</b>	<b>,010</b>	<b>,016</b>	<b>1,079</b>	<b>1,014- 1,147</b>
Resektatvolumen in ml	,022	,706	,999	,991- 1,006
Restlebertvolumen in ml	,004	,572	,998	,991- 1,005
Restlebertvolumen in % von präOP Lebertvolumen	,003	,515	,920	,715- 1,183
<b>LF-RD</b>				
HGF 6 h postOP	,020	,940	1,000	,999- 1,001
HGF 1. POD	,014	,117	1,001	1,0- 1,002
HGF 2. POD	,002	,279	1,001	,999- 1,003
HGF 5. POD	,027	,915	1,000	,997- 1,003
Bilirubin total präOP	,029	,454	,159	,001- 19,656
Restlebertvolumen in ml	,031	,825	1,002	,985- 1,019
Restlebertvolumen in % vom präOP Lebertvolumen	,039	,525	,873	,574- 1,327

Der einzige signifikante Faktor für die Entstehung eines PHLF nach ISGLS-Einteilung ist der HGF-Serumspiegel am 1. POD. In den anderen Einteilungen eines PHLF bzw. LF-RD stellte sich der HGF-Serumspiegel multivariat betrachtet als nicht signifikant dar. Das PHLF laut LiMAx am 1. POD hat als signifikanten Risikofaktor die intraoperative Ischämiezeit und den präoperativen HGF-Serumspiegel.



#### 4.4.6 ROC-Analysen und Cutoff-Werte für den HGF- Serumspiegel

In der Auswertung der oben dargestellten Daten ergeben sich Hinweise auf den Vorhersagewert des postoperativen HGF-Serumspiegels bezüglich des postoperativen Outcomes. Um der Fragestellung weiter nachzugehen, wurden Receiver Operating Characteristic-Analysen (ROC-Analysen) durchgeführt.

Die HGF-Spiegel zu einem jeweiligen Messzeitpunkt, die in den univariaten Analysen signifikante Werte aufzeigten, werden in den Tabellen 9-12 mit den Ergebnissen der ROC-Analysen gezeigt.

**Tabelle 9: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und PHLF nach 50-50-Kriterien.**

POD = postoperativer Tag, AUC = Fläche unter der ROC-Kurve.

PHLF nach 50-50-Kriterien					
HGF	AUC	Standardfehler <sup>a</sup>	Asymptotische Signifikanz <sup>b</sup>	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
1. POD	,990	,011	,000	,969	1,000

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

**Tabelle 10: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und PHLF nach ISGLS-Kriterien.**

Eingeteilt in Gruppe 1: kein PHLF/ Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF;

POD = postoperativer Tag, AUC = Fläche unter der ROC-Kurve.

PHLF nach ISGLS-Kriterien					
HGF	AUC	Standardfehler <sup>a</sup>	Asymptotische Signifikanz <sup>b</sup>	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
1. POD	,753	,058	,000	,639	,867
2. POD	,763	,052	,000	,660	,866
3. POD	,692	,054	,003	,587	,798
5. POD	,686	,059	,005	,572	,801
10. POD	,687	,059	,005	,572	,802

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

**Tabelle 11: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und PHLF laut LiMax am 1. POD.**

POD = postoperativer Tag, AUC = Fläche unter der ROC-Kurve.

PHLF laut LiMax am 1.POD					
HGF	AUC	Standardfehler <sup>a</sup>	Asymptotische Signifikanz <sup>b</sup>	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
präOP	,640	,077	,057	,490	,790
<b>1. POD</b>	<b>,681</b>	<b>,079</b>	<b>,014</b>	<b>,525</b>	<b>,837</b>

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

**Tabelle 12: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und LF-RD.**

POD = postoperativer Tag, AUC = Fläche unter der ROC-Kurve.

LF-RD					
HGF	AUC	Standardfehler <sup>a</sup>	Asymptotische Signifikanz <sup>b</sup>	Asymptotisches 95% Konfidenzintervall	
				Untergrenze	Obergrenze
6 h postOP	,854	,103	,017	,652	1,000
<b>1. POD</b>	<b>,978</b>	<b>,017</b>	<b>,001</b>	<b>,943</b>	<b>1,000</b>
2. POD	,965	,022	,002	,922	1,000
5. POD	,812	,044	,035	,726	,892

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

Aus den ROC-Analysen geht hervor, dass die Spiegel des Wachstumsfaktors HGF mit einer hohen Sensitivität und Spezifität mit dem Ereignis eines PHLFs und des LF-RDs korrelieren. Dabei fällt der Wert des 1. POD's (bei der Einteilung der ISGLS auch der 2. POD) in jeder ROC-Analyse besonders auf. Während die Fläche unter der ROC-Kurve (Area under the Curve = AUC) mit ,990 und einer Signifikanz von ,000 in der PHLF-Einteilung nach 50-50-Kriterien darstellt (vgl. [Tabelle 9, Seite 57](#)), dass HGF zu diesem Messzeitpunkt einen hohen Vorhersagewert hat, liegt die AUC nach der ISGLS-Einteilung niedriger. Hier weist der HGF-Spiegel eine Fläche von ,753 bei einer Signifikanz von ,000 auf. Auch bei einem PHLF laut LiMax-Testergebnis zeigt sich am 1. POD durch die AUC von ,681 ein Vorhersagewert durch den HGF-Serumspiegel am 1.

POD (Signifikanz ,014). Der LF-RD wird bei einer AUC von ,978 (Signifikanz ,001) durch den HGF-Spiegel am 1. POD vorhergesagt.

Über die statistische Anwendung des Youden-Index wurden Cutoff-Werte für die jeweiligen Gruppenvariablen PHLF nach 50-50-Kriterien, klinisch relevantes PHLF (Gruppe 2 nach ISGLS Kriterien), PHLF laut LiMax-Testergebnis am 1. POD und den LF-RD bestimmt. Die dazu gehörigen Werte für Sensitivität und Spezifität sowie der PPW und NPW sind in *Tabelle 13* dargestellt.

***Tabelle 13: Cutoff-Werte des HGF-Serumspiegels für die Entstehung eines PHLF (eingeteilt nach 50-50-Kriterien, nach ISGLS-Definition und laut LiMax am 1. POD) und des LF-RD.***

*Gezeigt werden die dazu gehörige Sensitivität, Spezifität sowie der positive (PPW) und negative prädiktive Wert (NPW).*

HGF	Ereignis/ Variable	HGF Cutoff [pg/ml]	Sensitivität	Spezifität	PPW	NPW
<b>1. POD</b>	PHLF nach 50-50-Kriterien	<b>9973</b>	1,00	,94	,42	1,00
<b>1. POD</b>	PHLF nach ISGLS-Kriterien: Gruppe 1: kein PHLF/ Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF	<b>6197</b>	,64	,80	,43	,90
<b>1. POD</b>	PHLF laut LiMax am 1. POD	<b>5816</b>	,63	,72	,29	,92
<b>1. POD</b>	LF-RD	<b>9674</b>	1,00	,92	,29	1,00

## 5 Diskussion

Im Folgenden soll zuerst die grundlegende Problematik der Einstufung des postoperativen Outcomes nach Leberteilresektion hinterfragt werden. Anschließend werden die Hauptergebnisse diskutiert. Die Wertigkeit des Wachstumsfaktors HGF nach Leberteilresektion soll erörtert und mit andern Leberfunktionstests und Blutwerten verglichen werden. Dann wird die Studie kritisch bezüglich ihrer Methoden und Limitationen betrachtet und schließlich eine Schlussfolgerung und ein Ausblick gegeben.

### **5.1 Besteht Bedarf an besserem Monitoring nach einer Leberteilresektion?**

Das Leberversagen sowie der leberversagen-assoziierte Tod nach einer Leberteilresektion bleiben neben anderen postoperativen Ereignissen gefürchtete Komplikationen in der Leberchirurgie<sup>7,15,20,23</sup>. Trotz der Verbesserung perioperativer Verläufe durch chirurgische Fortschritte<sup>115</sup>, wie der vermehrten Anwendung von parenchymsparenden, segmentalen Resektionen und der Verminderung des operativen Blutverlusts<sup>23</sup>, schwankt die Inzidenz des PHLF's bei präoperativ gesundem Lebergewebe abhängig von Studienpopulationsgröße und Operationsausmaßen in der Literatur zwischen 0,7%<sup>116</sup> und 9,1%<sup>117</sup>. Bezieht man Untersuchungen an heterogenen Patientenpopulationen mit ein, erschwert dies den Vergleich der Aussagen verschiedener Studien<sup>3</sup>. Komplikationsraten von bis zu 45% sind nicht ungewöhnlich<sup>21,23,31,118</sup>. Auch die Mortalität nach Leberteilresektion reicht im letzten Jahrzehnt von 0%<sup>7</sup> bis 4% bei nicht vorgeschädigter Leber<sup>15,19,22</sup>. Dabei stellt das PHLF noch immer eine führende Komplikation<sup>118</sup> und Ursache des postoperativen Todes dar<sup>3,18,119</sup>. Viele Untersuchungen ermittelten für Morbidität und Mortalität nach Leberteilresektion prädiktive Faktoren wie geringes Restlebertvolumen<sup>7,23,120</sup>, exzessiver intraoperativer Blutverlust<sup>117</sup> oder eine präoperative Leberschädigung wie Zirrhose<sup>2</sup>, Steatose<sup>121</sup> oder Cholestase<sup>122</sup>. Oft konnten diesen Faktoren ebenfalls bezüglich eines PHLFs ein Vorhersagewert zugesprochen werden. Obwohl jene Risikofaktoren allgemein bekannt sind, rechtfertigt das Bestreben nach einer kurativen operativen Therapie ausgedehnte Leberteilresektionen mit teilweise grenzwertig geringem Restlebertvolumen<sup>8,18</sup>. Daneben müssen große Resektionen auch an vorgeschädigtem Leberparenchym durchgeführt

werden, weil die Prävalenz von Zirrhose<sup>123</sup>, nichtalkoholische Fettlebererkrankung (Non-Alcoholic fatty liver disease, NFALD)<sup>124</sup> und chemotherapie-induzierter Leberschädigung<sup>125</sup> steigt. Ein dadurch erhöhtes Risiko für Komplikationen wird oftmals für eine vollständige Tumorentfernung in Kauf genommen<sup>3</sup>. Hat ein Patient bei nicht oder wenig vorgeschädigter Leber eine gute präoperative Leberfunktion und wird keine große partielle Leberteileresektion durchgeführt, so scheint die Person einem geringen Risiko von Komplikationen ausgesetzt zu sein. Dennoch gibt es Fälle, bei denen sich die Leber unter vermeintlich guten Voraussetzungen schlecht oder mittelmäßig regeneriert<sup>16</sup>. Auf dieser Grundlage kommen ebenso unerwartet komplikationsreiche Verläufe bis hin zu einem (temporären) postoperativen Leberversagen vor. So besteht trotz der generellen Verbesserung der operativen Techniken, der anästhesiologischen Behandlung und des postoperativen Managements ein (Rest-) Risiko von postoperativen Komplikationen in Zusammenhang mit einer eingeschränkten postoperativen Leberfunktion<sup>15,18,115</sup>. Dieses Risiko im postoperativen Verlauf frühzeitig abschätzen zu können, wäre sehr wünschenswert und eine innovative Verbesserung in der Leberchirurgie.

### **5.1.1 Vor- und Nachteile benutzter Kriterien und Klassifikationen zur Einschätzung des postoperativen Outcomes**

Postoperativ sinkt die Leberfunktion bei jedem der Studienteilnehmer in unterschiedlicher Ausprägung ab. In diesem Moment finden regenerierende Anpassungsvorgänge in der Leber statt, sodass die Leberfunktion ab 72 h nach der Operation wieder anfangen sollte, sich zu erholen. Dies geschieht, obwohl die vollständige Lebermasse noch nicht wieder nachgewachsen ist<sup>44,49</sup> und ist abhängig von Wachstumsfaktoren wie HGF<sup>60,88</sup>.

Um anhand der Vorhersagekraft verschiedener (Risiko-)Faktoren das postoperative Outcome nach Leberteileresektion einzuschätzen, ist es notwendig, den postoperativen Verlauf eines Patienten einzustufen und in statistisch auswertbare Formen zu bringen. Dies gestaltet sich in der täglichen klinischen Routine wie auch in diesem Studienformat insofern problematisch, als dass kein Klassifikationssystem speziell für Posthepatektomie-Komplikationen existiert. Gleichmaßen gibt es weder eine universelle Definition eines PHLF noch einheitliche Tests diesbezüglich<sup>9,21,31,118</sup>.

Komplikationen nach einer Leberteileresektion lassen sich entweder einzeln auflisten oder durch eine Klassifikation einstufen. Letzteres scheint sinnvoller, da manche

postoperativen Komplikationen schwerwiegender als andere sind und eines umfangreicheren klinischen Managements bedürfen. Hierbei hat sich das Klassifikationssystem der Clavien-Gruppe<sup>107</sup> als verlässliches, allgemein bekanntes und vielfach angewendetes Verfahren bewährt<sup>9,31</sup>. Die Klassifikation hat allerdings keinen direkten prädiktiven Wert auf das postoperative Outcome nach Leberteileresektion, sondern dient vielmehr der Einstufung der einzelnen postoperativen Komplikationen. Auf Operationen jeder Art bezogen korreliert sie signifikant mit der Operationskomplexität und dem Krankenhausaufenthalt, sodass sie auch in dieser Untersuchung bezüglich der grundlegenden Einschätzung des Komplikationsschweregrades passend erscheint.

Möchte man jedoch den prädiktiven Wert einer Variable nicht auf die allgemeinen postoperativen Komplikationen bzw. Morbidität ermitteln, sondern auf das Leberregenerationspotenzial nach einer Leberteileresektion, gestaltet sich die Untersuchung schwieriger. Wie stellt sich die postoperative Leberregeneration klinisch dar und an was misst man sie? Es wäre in jedem Fall von Vorteil, im frühen Verlauf nach PHx abschätzen zu können, wie gefährdet ein Patient für ein postoperatives Leberversagen oder die damit verbundenen Komplikationen ist. Wäre dies möglich, würde es sich einfacher darstellen, auf die sich im postoperativen Verlauf entwickelnden Komplikationen zu reagieren.

Tani et al. schätzten die Leberregeneration anhand der Volumenzunahme des Organs ein<sup>29</sup>. Das erscheint auf den ersten Blick sinnvoll, da nach einer großen Hepatektomie schon innerhalb eines Tages die Replikation der Hepatozyten beginnt. Nicht-parenchymale Zellen folgen etwas später<sup>46,50</sup>. Nach der Replikation von Zellen kommt es zu einer Zunahme der Zellgröße. Es bleibt allerdings zu bedenken, dass sich neben leberfunktions-verantwortlichen Hepatozyten auch vermehrt Zellen replizieren, die keine Synthese- oder Entgiftungsfunktion der Leber übernehmen. Analog einer Narbe bei anderen Gewebsverletzungen restauriert sich die Leber auch mittels Bindegewebe, was keinen Anteil an der postoperativen Leberfunktion hat. So muss man hinterfragen, ob eine Volumenzunahme einer adäquaten Leberregeneration gleichzusetzen ist. Dazu kommt, dass das vollständige Lebervolumen beim Menschen im Schnitt erst nach einem Jahr wiederhergestellt ist<sup>49</sup>. Tani et al. betrachteten den Zeitraum von 6 Monaten.

Die Untersuchung von Tests zur präoperativen Einschätzung der enzymatischen und nicht-enzymatischen Leberfunktion ergab bisher ebenso keinen einheitlichen Goldstandard<sup>14</sup>. Durch die Computertomografie (CT) kann das präoperative Lebervolumen und das geplante Resektionsausmaß bestimmt und mit der postoperativen

Leberfunktion korreliert werden. Diese Methode verlässt sich auf eine gesunde und homogene Leberfunktion<sup>11,12</sup>. Patienten mit Tumoren auf der Grundlage einer fibrotisch oder zirrhotisch veränderten Leber, wie das hepatozelluläre Karzinom, oder mit obstruierenden Tumoren, wie das cholangiozelluläre Karzinom, unterliegen jedoch schlechteren Voraussetzungen bezüglich ihrer Leberfunktion als Patienten mit Lebermetastasen oder benignen Veränderungen<sup>126,127</sup>. Das Lebervolumen ist der Leberfunktion nicht gleichzusetzen. Dies stellt die generelle Anwendbarkeit der Lebervolumetrie als einzelne Untersuchung in Frage.

Wenn Einigkeit darüber besteht, dass die Leber nach einer Resektion ihre Synthese-, Exkretions- und detoxifizierende Funktion aufrechterhalten soll<sup>9,20</sup>, ist es sinnvoll, die regenerative Kapazität anhand von Leberfunktionstests zu messen. Um die individuelle perioperative Leberfunktion und das daraus regenerative Potential beurteilen zu können, wurden in der Vergangenheit mehrere Leberfunktionstests in ihrer Anwendung untersucht. Weder der Indocyaningrün-Test<sup>128-130</sup>, die Galaktose-Eliminations-Kapazität<sup>131</sup> noch der Monoethylglycinexylidide-Test<sup>132</sup> konnten sich dabei als zuverlässige Prädiktoren für postoperative Komplikationen beweisen. Auch die nuklearen Untersuchungsmethoden wie die Single-Photon Emission Computerized Tomography (SPECT) mit Technetium-99m werden angewendet, um die Leberfunktion perioperativ zu untersuchen. Bisher gehört keiner der genannten Tests zur Routinediagnostik bei Hepatektomien<sup>14,133</sup>.

Anhand der Messwerte des LiMAx-Leberfunktionstest ist es möglich, Aussagen über die aktuelle Leberfunktion am Krankenbett nach einer solchen Operation zu treffen und damit das Leberregenerationspotential abzuschätzen<sup>41,134,135</sup>. Wie im [Abschnitt 3.4.2](#) beschrieben wird dem LiMAx-Testergebnis am 1. POD in der Literatur die größte Vorhersagekraft bezüglich des postoperativen Outcomes (Morbidität und Mortalität) zugesprochen<sup>9</sup>. Das Vorkommen bzw. die Aktivität von CYP1A2 erlaubt eine klare Unterscheidung zwischen einer normalen und einer reduzierten Leberfunktion, da in geschädigtem Lebergewebe weniger gesunde Hepatozyten bzw. eine geringere Aktivität von CYP1A2 festzustellen sind<sup>136</sup>. Methacetin ist ein geeignetes Substrat, um die Leberfunktion mittels Atemtest zu bestimmen, da es in einem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt durch CYP1A2 verstoffwechselt wird<sup>109</sup> und bisher keine schädlichen Effekte beschrieben worden sind<sup>137,138</sup>. In dieser Untersuchung wurden Störfaktoren des Test vermieden: Bei mechanisch beatmeten Patienten wurde die expiratorische Probe direkt durch einen Abzweig aus dem expiratorischen Schenkel

des Respirators gewonnen. Außerdem wurde am Beatmungsgerät auf eine strikt konstante Sauerstoffzufuhr geachtet, um Störungen der infrarotspektrometrischen Messungen zu vermeiden<sup>139</sup>. Der LiMAX-Test ist praktikabel für eine Routinediagnostik und gut in stationäre sowie ambulante Routineabläufe einzugliedern. Dem hingegen ist er bisher nicht überall verfügbar und verhältnismäßig teuer in der Anschaffung. Die durch ihn ermittelte Leberfunktion ist sowohl vom Lebervolumen als auch von der Leberfunktion abhängig<sup>112,113</sup>. Der LiMAX-Test wurde in der Leberchirurgie<sup>9,41,113</sup>, sowie in Fällen der Lebertransplantation<sup>134,135,140,141</sup> evaluiert und hat sich auf diese Weise zu einer präzisen Methode entwickelt, um die Leberfunktionskapazität zu quantifizieren<sup>9,13,41,113,142</sup>. Es erscheint sinnvoll am LiMAX einen neuen diagnostischen Test wie die Bestimmung von HGF im Serum zu messen.

Charakterisierende Symptome einer PHLFs sind Koagulopathie, Hyperbilirubinämie (ggf. mit Ikterus) und Enzephalopathie<sup>3,17</sup>. Folgt man diesen klinischen und paraklinischen Parametern, bilden sie eine schlechte postoperative Leberfunktion ab. Die Leber wird in dieser Situation ihrer postoperativen Aufgabe (der Erhaltung der Homöostase) nicht gerecht. Sie regeneriert sich nicht adäquat<sup>17</sup>. Dieser Zusammenhang erklärt, warum es sinnvoll ist, den postoperativen Kurs der Leberregeneration anhand des Auftretens eines PHLF oder dem LF-RD zu messen<sup>16</sup>.

Es bleibt jedoch schwer einzuschätzen, wie sich die Kausalität verhält: Bedingt die postoperative schlechte Leberfunktion die Komplikation oder bedingen die postoperativen Komplikationen die schlechte Leberfunktion? So können Aszites, Pleuraergüsse und Ödeme auf eine schlechte Leberfunktion zurückgeführt werden, können aber auch durch eine Herzinsuffizienz oder Urämie bedingt sein, die eine Leberfunktion wiederum verschlechtern kann. Kleine Wundheilungsstörungen bis zu großen Platzbäuchen sowie Gallenleckagen und Nachblutungen können sowohl durch eine schlechte postoperative Leberfunktion, als auch durch operative Fehler entstehen. Cholangitis oder Peritonitis sind zwar nicht begründet in einem postoperativen Leberversagen, stellen aber doch Komplikationen nach einer Leberteilresektion dar, die einkalkuliert werden müssen und im Rahmen eines PHLF auftreten können. Ein Leberversagen nach Leberteilresektion tritt selten isoliert auf, sondern ist oft mit einem (Multi-)Organversagen und Zeichen einer Sepsis verbunden<sup>17</sup>.

Auch um Wachstumsfaktoren wie HGF bezüglich ihres prädiktiven Werts auf das Outcome nach Leberteilresektion zu untersuchen, war es zwingend notwendig, Komplikationen, das PHLF und den LF-RD zu definieren.



Balzan et al. führten die 50-50-Kriterien ein<sup>22</sup>. Das Modell legt durch die objektiven Laborparameter (SB und INR) am 5. POD einen klaren Maßstab fest. Diese Laborparameter liegen verhältnismäßig weit über den Referenzwerten der jeweiligen Blutwerte. In späteren Untersuchungen haben sich allerdings höhere Cutoff-Werte für das Serumbilirubin als tauglicher erwiesen, um ein PHLF zu definieren (z. B. SB von >7mg/dl mit einer Sensitivität von 93% und einer Spezifität von 94%)<sup>9,31</sup>. Auch wenn das 50-50-Modell in mehreren Untersuchungen angewendet wurde<sup>33,36-39</sup> und andere Klassifikationen darauf aufbauen<sup>20,31</sup>, muss erwähnt werden, dass das eigentliche 50-50-Criteria-Modell einzig die Mortalität zu 100% vorhersagt, die Morbidität bzw. das Leberversagen nach einer Leberteileresektion allerdings nur zu 50% (Sensitivität 50%, Spezifität 97%). Auch in dieser Untersuchung ergeben sich auffallend ähnliche statistische Ergebnisse verglichen mit denen des LF-RD. Durch spätere Untersuchungen wurde ebenso der hohe prädiktive Wert bezüglich der Mortalität angezweifelt<sup>31</sup>. Außerdem bezieht es sich nur auf den postoperativen Status am 5. POD, macht allerdings keine Aussage zur Bedeutung von schlechten Leberwerten im früheren oder weiteren postoperativen Verlauf. Die für die 50-50-Kriterien betrachtete Patientenpopulation war heterogen bezüglich der OP-Ausmaße sowie zugrunde liegender präoperativer chronischer Lebererkrankungen. Die Klassifikation beinhaltet weder leber-assoziierte Komplikationen im Einzelnen noch eine Einteilung in Schweregrade, ist durch seine zwei Routineparameter (Serumbilirubin und Quickwert) jedoch simpel gehalten und universell einsetzbar.

Wie oben erwähnt, stützen sich mehrere Studien auf die Möglichkeit, ein Leberversagen nach Leberteileresektion auf diese Weise abschätzbar zu machen. Auch die ISGLS um Rahbari et al. entwickelte ihre PHLF-Definition und -Klassifikation auf der Grundlage des Serumbilirubins und eines Gerinnungswertes in Form der INR<sup>20</sup>. Basierend auf einer Literaturrecherche legten sie sich auf die oben genannte Definition des PHLFs fest und gliederten diese anhand des Bedarfs an klinischem Management in drei Schweregrade. Auf den ersten Blick wirkt diese Klassifikation gut durchdacht und durch ihre niedrigeren Cutoff-Werte für SB und INR sowie die Schweregradeinteilung sehr sensibel, was die Fragestellung eines PHLF betrifft. Im selben Jahr publizierte die Arbeitsgruppe um Rahbari die Untersuchung des prädiktiven Wertes dieses Scores auf das postoperative Outcome im Vergleich zum MELD-Score und den 50-50-Kriterien<sup>21</sup>. Dabei stellte sich allerdings in der multivarianten Analyse nur der MELD-Score als früher Prädiktor für Morbidität dar. Trotz moderat guter Spezifität der PHLF-Einteilung der ISGLS und der 50-

50-Kriterien, reichte die Sensitivität der Scores nicht aus, um das PHLF nach Leberteilektomie vorherzusagen. Bezüglich der postoperativen Mortalität stellten sich MELD- und ISGLS-Score als Prädiktoren dar. Bleibt anzumerken, dass der MELD-Score wie unter anderem der Child-Turcotte-Pugh-Score (CTP) immer wieder strittige Ergebnisse bezüglich betreffender Fragestellung liefern und deshalb diesbezüglich nicht allgemein anerkannt sind<sup>108,133,143</sup>.

Trotz der widersprüchlichen Ergebnisse der Studien über den prädiktiven Wert der postoperativen Risiko-Scores (50-50-Kriterien und PHLF nach ISGLS-Definition und Klassifikation) sind diese Scores die aktuellen Methoden in statistischen Arbeiten, um das Outcome nach Leberteilektomie einzuschätzen. Die Kontroverse hierüber ist so groß, dass sie von manchen Autoren als „Dilemma mit willkürlich festgelegten Kriterien“ bezeichnet wird<sup>31</sup>. Das zeigt einmal mehr den weiteren Untersuchungsbedarf dieser Fragestellung an. Die Ergebnisse sollten behutsam interpretiert werden. Eine Risikostratifizierung auf diesem Wege scheint sehr hilfreich zu sein, um Patienten mit komplikationsreichen Verläufen zu identifizieren. Derzeit bleibt jedoch der klinische Status des Patienten inklusive Aszitesentwicklung, Zeichen der Enzephalopathie und Organversagen die Grundlage für Therapieentscheidungen<sup>21</sup>. Ein Blutparameter, der vor der Entwicklung einer symptomatischen Komplikation eine Prognose zum weiteren postoperativen Verlauf nach PHx abschätzbar macht, ist bisher nicht identifiziert.

Der LF-RD ist definiert als der Tod auf der Grundlage eines Leberversagens mit oder ohne Multiorganversagen<sup>31</sup>. Hierbei erscheint es mitunter strittig, ob ein Tod lebersversagen-assoziiert eingetreten ist, wenn ein Patient letztendlich an einer Infektion mit folgender Sepsis verstirbt und diese Komplikation möglicherweise auch ohne verminderter Leberfunktion zum Tode geführt hätte<sup>16</sup>. In der vorliegenden Untersuchung sind alle vier Todesfälle lebersversagen-assoziiert eingetreten. Alle vier Studienteilnehmer, die innerhalb von 90 postoperativen Tagen verstorben sind, litten initial unter lebersversagen-assoziierten Komplikationen wie Pleuraergüssen und ausgeprägtem Aszites. Sie hatten zu mindestens zwei Messzeitpunkten des Studienprotokolls einen LiMAX unter 100 µg/kg/h, meist sogar unter 85 µg/kg/h. Sie zeigten Zeichen einer hepatischen Enzephalopathie und wurden intensivmedizinisch behandelt. Jeder der Patienten hatte ein PHLF Grad C nach ISGLS-Einteilung sowie ein PHLF nach 50-50-Kriterien. Gleichwohl sie alle letztendlich an septischen Komplikationen verstarben, wäre jeder dieser postoperativen Verläufe ohne ein zugrunde liegendes Leberversagen nicht denkbar.

### **5.1.2 Antwort auf die Frage: Besteht ein Bedarf an einem besserem Monitoring nach einer Leberteileresektion?**

Auch wenn oben genannte Modelle bzw. Klassifikation eines PHLF's existieren und immer wieder diskutiert werden, scheinen sie doch nicht universell angesehen und uneinheitlich, sodass der Bedarf an eindeutigeren und frühzeitig ausschlagenden Methoden zur Einschätzung des postoperativen Verlaufes nach Leberteileresektion immer noch besteht. Es stellt sich weiterhin die Frage, ob es Möglichkeiten eines besseren Monitorings im vorzugsweise sehr frühen postoperativen Verlauf gibt, um nicht erst auf Komplikationen wie ein PHLF oder einen drohenden LF-RD zu reagieren, wenn diese bereits eingetreten sind. Es scheint nicht schwer ein fulminantes Versagen der postoperativen Leberfunktion zu diagnostizieren. Die Herausforderung besteht darin, die Bedeutung von verschiedenen Variablen auf mildere Formen der Leberfunktionsstörung herauszufinden<sup>17</sup>.

Neben der Definition und einem frühen Monitoring ist ebenfalls ein besseres Verständnis der Pathophysiologie eines Leberversagens nach Leberteileresektion erstrebenswert<sup>3</sup>. Wachstumsfaktoren wie HGF spielen hierbei eine entscheidende Rolle<sup>45-47</sup>. Aus diesen Gründen ist die weitere Untersuchung einer Relevanz des Wachstumsfaktorenspiegels von HGF für das postoperative Outcome nach einer Leberteileresektion erforderlich.

## **5.2 Diskussion der Hauptergebnisse**

### **5.2.1 Wachstumsfaktor HGF nach Leberteilresektion**

Wachstumsfaktoren der Leber sind Gegenstand von Diskussionen um ihren klinischen Nutzen. Es gibt mehrere Ansätze, sie für ein besseres Monitoring bezüglich unterschiedlicher Ereignisse (PHLF, Leberwachstum, Mortalität, Leberzirrhose, Hepatitis<sup>72</sup>, ALF<sup>26,27</sup>) anwendbar zu machen. Auch als Medikament, um ein Leberwachstum bei fehlender funktioneller Lebermasse anzuregen, ist HGF Gegenstand aktueller Forschung<sup>104</sup>.

In dieser Untersuchung zeigt HGF als der hier betrachtete Wachstumsfaktor anhand seines Serumspiegels am 1. POD sehr früh im postoperativen Verlauf an, ob mit relativ hoher Wahrscheinlichkeit ein PHLF oder ein LF-RD auftritt.

#### **5.2.1.1 HGF als prognostischer Faktor nach PHx am Menschen**

Um HGF als Prädiktor für das Outcomes nach Leberteilresektion zu bewerten und oben genannte Fragestellungen dieser Studie zu beantworten, müssen die Ergebnisse der Untersuchung schrittweise betrachtet werden.

Zum ersten konnten in dieser prospektiven Studie am Menschen gegenüber dem Wachstumsspiegelverlauf nach Leberteilresektion an Nagetieren vergleichbare Ereignisse festgestellt werden. Bisherige Annahmen werden damit bestätigt<sup>29,30</sup>. Wie im Tiermodell<sup>60,73,89</sup> steigt HGF auch in dieser Patientenpopulation wenige Stunden nach einer Leberteilresektion deutlich an (vgl. [Abbildung 3, Seite 19](#) und [Abbildung 9, Seite 44](#)). Im Gegensatz zum Nagetier geschieht dies hier zeitlich versetzt und auf einem unterschiedlichen Spiegellevel (Ratte: von 20 000 pg/mg auf ein Maximum von 25 000 pg/ml innerhalb von 2 h<sup>73</sup>; in dieser Untersuchung: von rund 2000 pg/ml auf rund 5300 pg/ml innerhalb von 24 h). Dies kann einerseits durch die ungleiche Organismus- und Organgröße sowie durch unterschiedliche ELISA-Messmethoden erklärt werden.

Zum zweiten – und damit zur zentralen Fragestellung der Untersuchung – konnte dargestellt werden, dass in dieser Studienpopulation eindeutige, statistisch signifikante Unterschiede zwischen den (Kurven-) Verläufen des HGF-Serumspiegels in den hier

betrachteten Untergruppen des PHLF bzw. LF-RD bestehen ( $p=,000$  bezüglich aller Kurvenvergleiche).

Der HGF-Serumspiegel am 1. POD unterscheidet sich in der univariaten Analyse signifikant abhängig von der Frage, ob ein Patient postoperativ ein PHLF im Sinne der 50-50-Kriterien ( $p=,002$ ), ein klinisch relevantes PHLF nach der ISGLS-Schweregrad-Einteilung entwickelt ( $p=,001$ ), der LiMAx am 1. POD ein PHLF anzeigt ( $p=,016$ ), ein Patient an einem LF-RD verstirbt ( $p=,014$ ) oder keine dieser Komplikationen auftreten. Betrachtet man die Baseliniencharakteristika (minimaler bis maximaler Variablenwert in der Gruppe des PHLF oder des LF-RD), fällt allerdings auf, dass die HGF-Werte von niedrig bis sehr hoch streuen, auch wenn statistisch signifikante Unterschiede in den HGF-Serumspiegeln in den Untergruppen eines PHLF vorliegen. Bei der Einteilung nach den 50-50-Kriterien und des LF-RD schwanken die HGF-Spiegel weniger und liegen im hohen Bereich (zwischen rund 10 000 und 17 000 pg/ml). In den Gruppen eines PHLF nach ISGLS und laut LiMAx-Testergebnis am 1. POD lagen allerdings auch HGF-Spiegel vor, die mit rund 2000 pg/ml im präoperativen (Normal-) Bereich liegen. Es ergibt sich so eine Diskrepanz zwischen den beiden Einteilungen eines PHLF und der Vorhersagekraft von HGF am 1. POD. Dies könnte in den mildereren und diffizileren Definitionen des PHLF in Form der ISGLS-Einteilung und laut LiMAx am 1. POD begründet sein. Die beiden Klassifikationen präsentieren sich mit auffallend parallelen Ergebnissen in dieser Untersuchung. Dies wurde vorher nicht erwartet. Nicht unerwartet waren die ähnlichen Ergebnisse des PHLF nach 50-50-Kriterien und des LF-RD: Hatten doch 4 von 5 verstorbenen Patienten ein PHLF nach 50-50-Kriterien und ist ein PHLF nach dieser Definition einzig mit der Mortalität zu 100%, mit der Morbidität bzw. das Leberversagen nach einer Leberteileresektion allerdings nur zu 50% assoziiert (siehe [Abschnitt 5.1.1](#)). Betrachtet man die zuvor diskutierten Kurvenverläufe des HGF-Serumspiegels mit dem statistischen Wert von HGF am 1. POD, so liegt letzterer durchschnittlich deutlich höher bei den Patienten, die postoperativ komplikationsreiche Verläufe aufzeigen. Patienten, deren postoperativer Verlauf unauffällig ist oder von der isolierten Veränderung des Labors betroffen sind (ISGLS Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF), haben dagegen am 1. POD signifikant niedrigere HGF-Spiegel.

In der Literatur bekannte und häufig diskutierte Einflussfaktoren auf das postoperative Outcome nach PHx wie der präoperative Bilirubinspiegel, die Operationszeit, die Anzahl intraoperativ verabreichter Fresh Frozen Plasma-Konzentrate, die intraoperative Ischiämiedauer (Pringle-Manöver) und das Resektatvolumen in ml weisen in dieser

Untersuchung in der univariaten Analyse teilweise Unterschiede bei Patienten auf, bei denen ein PHLF oder LF-RD aufgetreten ist. Das Restlebertvolumen in ml und in Prozent vom präoperativen Lebertvolumen unterscheidet sich ähnlich wie der HGF-Serumspiegel bei allen Einteilungen eines PHLFs (respektive des LF-RDs) in der univariaten Untersuchung.

Leider stellte sich der HGF-Serumspiegel am 1. POD in der multivariaten logistischen Regressionsanalyse nicht mit herausragenden Werten als Prädiktor für ein PHLF dar. Einzig in der Einteilung nach ISGLS war er ein signifikanter prädiktiver Faktor für das PHLF nach dieser Definition. In allen anderen Einteilungen lag er knapp im nicht-signifikanten Bereich. Dagegen zeigt die multivariate Analyse der Risikofaktoren für die Entwicklung eines PHLF laut LiMAX-Testergebnis am 1. POD, dass hier noch andere Faktoren eine Rolle spielen. Hierbei sind der präoperative HGF-Spiegel und die intraoperative Ischämiezeit der Leber auch signifikante Faktoren. In der vorhergehenden Analyse (univariat) und bei den darauf folgenden ROC-Analysen konnten diesen Werten keine hohe Aussagekraft zugewiesen werden. Weiterhin ergaben sich für andere aus der Literatur bekannte Einflussfaktoren wie Bilirubinspiegel, die Operationszeit, die Anzahl intraoperativ verabreichter Fresh Frozen Plasma-Konzentrate, die intraoperative Ischämiedauer, das Resektatvolumen in ml sowie Restlebertvolumen in ml und in Prozent vom präoperativen Lebertvolumen in der multivariaten Analyse keine statistisch signifikanten Werte. Das Signifikanzniveau lag durchgehend unter dem für HGF am 1. POD.

In dieser Untersuchung konnten keine eindeutigen Unterschiede zwischen dem präoperativen Spiegel von HGF in Abhängigkeit vom postoperativen Outcome festgestellt werden. Einzig bei einem PHLF, das am 1. POD durch den LiMAX-Test vorhergesagt wurde, ergab sich eine Signifikanz von ,039 bei der univariaten und eine Signifikanz von ,016 in der multivariaten Analyse bezüglich des präoperativen Werts von HGF. Die Vorstellung, durch präoperative Blutparameter nicht nur die Operationsfähigkeit, sondern auch das postoperative Outcome abzuschätzen, erscheint sehr wünschenswert. HGF wird diesbezüglich in der Literatur der präoperative Vorhersagewert abgesprochen. Die präoperative Abschätzung der postoperativen Leberfunktionskapazität ist derzeit nur durch präoperative Volumetrie in Kombination mit der LiMAX-Leberfunktionsmessung möglich<sup>9</sup>. Weder bekannte Blutwerte, der CTP- noch der MELD-Score konnten diesen Wunsch erfüllen<sup>18,144</sup>. Präoperative Routinelaborparameter wie Albumin, PTT, SB, ALT,

AST,  $\gamma$ -GT oder AP liefern zwar Indikatoren zur hepatischen Dysfunktion und reflektieren untergehendes Leberparenchym, können jedoch präoperativ ebenfalls kein PHLF vorhersagen<sup>3</sup>.

Während sich Routine-Laborparameter wie der Bilirubinspiegel, Gerinnungswerte oder die PCHE als Lebersyntheseparameter zum Teil später im Verlauf nach einer Leberteilektomie bemerkenswert verändern, kann das Maximum des Wachstumsfaktors HGF beachtlich früh am 1. POD festgestellt werden. Dazu kommt, dass die Aussagekraft von Routinelaborparametern vielen Störfaktoren unterliegt. Ein erhöhtes Bilirubin kann eine unzureichende Leberentgiftung oder eine mechanische Cholestase bedeuten. Letzteres konnte als Störfaktor im postoperativen Verlauf in dieser Untersuchung nicht ausgeschlossen werden. Es gab häufig Fälle von Cholangitiden, die durch eine Enge der biliodigestiven Anastomose bedingt oder auch selbst Ursache für eine (Teil-) Okklusion eines Gallenganges sein können. Natürlich gab es durch stenosierende Tumore auch präoperativ Fälle mit diesem Krankheitsbild. Die sich postoperativ initial verschlechternden Gerinnungswerte können nicht nur durch eine zu geringe Lebersyntheseleistung, sondern auch durch eine intraoperative Verbrauchskoagulopathie erklärt werden. Die PCHE sinkt in dieser Untersuchung erst am 10. POD auf einen Tiefpunkt (Daten nicht gezeigt). Keinem der vielen einzelnen unspezifischen Leberschaden- und Syntheseparameter wird eine einzigartige Bedeutung bezüglich der Leberregeneration nach PHx zugesprochen. Dem hingegen sind Routine-Laborparameter günstig und in jedem Krankenhauslabor analytisch bestimmbar. Einen ELISA zur Bestimmung von HGF durchzuführen ist aufwendiger und (noch) wesentlich teurer.

Cutoff-Werte für Serumbilirubin oder INR zeigen ihren prädiktiven Wert nicht vor dem 5. POD<sup>22,40</sup>. Umso überlegener ist HGF. Es agiert in dieser Untersuchung als prognostischer Faktor am 1. POD, wenn multivariat auch nicht statistisch signifikant.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind diesbezüglich homogen, schlüssig zu vorangegangenen Untersuchungen und die Studienpopulation mit 128 Patienten ausreichend für eine statistische Auswertung.

Die ermittelten Cutoff-Werte für HGF weisen am 1. POD die höchste Vorhersagekraft in Bezug auf das PHLF und den LF-RD in dieser Untersuchung auf.

Die Ergebnisse der beiden Einteilungen 50-50-Kriterien und LF-RD liegen, wie in vorherigen Abschnitten bereits diskutiert, auch bezüglich der Cutoff-Werte auffallend nah beieinander. Der HGF-Spiegel von über 9973 pg/ml (respektive 9674 pg/ml für den LF-

RD) am 1. POD sagt in dieser Untersuchung mit hoher Wahrscheinlichkeit voraus (Sensitivität 100%, Spezifität 94% für PHLF nach 50-50-Kriterien und Sensitivität 100%, Spezifität 92% für den LF-RD), dass ein Patient ein PHLF nach 50-50-Kriterien entwickeln oder lebersversagen-assoziiert sterben wird. Mittels dieses Cutoff-Werts würde laut dieser Untersuchung kein Patient (NPW 100%) ein PHLF entwickeln oder am LF-RD sterben, der einen HGF-Spiegel unter 9973 pg/ml (respektive 9674 pg/ml für den LF-RD) am 1. POD aufweist. Liegt der Wert über dem Cutoff, wären immerhin 6 von 10 Patienten nicht von einem PHLF laut 50-50-Kriterien betroffen. 7 von 10 Patienten würden trotz eines HGF-Serumspiegels über dem Cutoff von 9674 pg/ml nicht lebersversagen-assoziiert sterben. Bei der geringen Patientenanzahl, die die 50-50-Kriterien erfüllten oder einen LF-RD erlitten, können die niedrigen PPW der Studienpopulationsgröße geschuldet sein. Wesentlich tiefer liegt der Cutoff-Wert des HGF-Serumspiegels, der den größten prädiktiven Wert auf das PHLF nach ISGLS-Einteilung und laut LiMax-Testergebnis am 1. POD erzielt. Auch diese beiden PHLF-Einteilungen präsentieren sich wie oben angedeutet mit sehr ähnlichen Cutoff-Werten und ähnlicher statistischer Vorhersagekraft. Anhand des Wertes von 6197 pg/ml (respektive 5816 pg/ml für ein PHLF laut LiMax) am 1. POD sagt der HGF-Spiegel mit 64%iger Sensitivität und 80%iger Spezifität vorher, ob ein Patient nach Leberteilresektion wegen seiner verminderten Leberleistung und Komplikationen eine Änderung des klinischen Managements benötigen wird oder nicht. Leicht darunter liegt die Sensitivität von 63% und Spezifität 72% für den errechneten HGF-Cutoff-Wert bezüglich der Frage nach dem Auftreten eines PHLF laut LiMax am 1. POD. Auch wenn hierbei schlechtere Werte in Prädiktion (PPW 43%, NPW 90% bei PHLF nach ISGLS-Einteilung und PPW 29%, NPW 92% bei PHLF laut LiMax-Testergebnis) erreicht werden, geht die Aussage des HGF-Spiegels so kurz nach der Operation in die gleiche Richtung wie in den anderen Einteilungen des PHLF.

Die Cutoff-Werte zeigen abhängig von der Klassifikation des PHLFs eine große Diskrepanz. Der wesentlich geringere HGF-Cutoff-Wert und die schlechtere Prädiktion in der Einteilung des PHLF der ISGLS-Klassifikation und laut LiMax am 1. POD kann mit den PHLF-Klassifikationen selbst zusammenhängen. Wie oben diskutiert sind diese beiden Einteilungen wesentlich graduiertes, aber dadurch weniger eindeutig. Die Zuverlässigkeit des HGF-Serumspiegels bezüglich der Entwicklung eines PHLFs ist folglich mittelmäßig.

Zusammenfassend wird die diskriminatorische Qualität des HGF- Serumspiegels am 1. POD im mittleren Bereich eingeschätzt. Der Test HGF am 1. POD kann somit



mittelmäßig gut, aber sehr früh im postoperativen Verlauf zwischen zwei Gruppen des PHLF bzw. des LF-RD unterscheiden.

Gäbe es einen allgemein anerkannten Test als Goldstandard zur Bewertung eines PHLFs, wären die Cutoff-Werte des HGF-Serumspiegels einfacher zu interpretieren.

Weitere Argumente für die Schlüssigkeit der Daten sind die Ergebnisse der durchgeführten Korrelationsanalyse (Daten im Anhang gezeigt, siehe [Abschnitt 7.2](#)) zwischen den Wachstumsfaktorspiegeln von HGF zu unterschiedlichen Messzeitpunkten und die Ergebnisse der univariaten Analyse. In Bezug auf fast alle Parameter konnten in der univariaten Analyse zwischen den verschiedenen Untergruppen des postoperativen Outcomes stimmige Ergebnisse erzielt werden (vgl. [Tabelle 7, Seite 53](#)). Einzig in den Variablen Operationszeit, präoperativer Bilirubinspiegel und intraoperative Gabe von FFPs unterscheiden sich die Aussagen bezüglich einer Korrelation zum PHLF oder dem LF-RD. Die derzeitige Datenlage zu diesen Variablen bleibt jedoch ebenfalls uneinheitlich<sup>145</sup>.

### **5.2.1.2 Prognostischer Wert von HGF in der Literatur**

HGF kann als ein sehr früh ausschlaggebender Parameter im Posthepatektomie-Verlauf gewertet werden. Dieser Fakt wird von anderen Forschungsergebnissen bestätigt: Bei Tieren steigt die m-RNA von HGF deutlich vor der Alanin-Aminotransferase (ALT) an<sup>146</sup>. Higuchi et al. konnten feststellen, dass bereits 3 bis 6 h nach einer PHx 60 bis 70% des HGFs nicht mehr an Membranen gebunden sind, die im Ruhezustand HGF speichern. Schon nach einer Woche erholt sich die Bindung und damit der Speicher wieder auf das 1,7-fache des präoperativen Zustands<sup>147</sup>.

Eguchi et al. zeigten schon im Vorfeld, dass der Wachstumsfaktorspiegel bei Ratten mit einem Leberversagen nach Leberteilresektion wesentlich höher liegt als bei Ratten ohne ein Leberversagen, die Expression von HGF und seinem Rezeptor c-met im Lebergewebe im Falle des Events aber verspätet ablief<sup>148</sup>. Erkenntnisse bezüglich Struktur und Herkunft des Proteins konnten erst durch die Isolation eines im Plasma ansteigenden Proteins bei Patienten, die unter einem fulminanten Leberversagen litten, gewonnen werden<sup>149</sup>.

Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass komplikationslos regenerierendes Lebergewebe weniger HGF benötigt als Lebergewebe, dessen regenerative Kapazität

nicht ausreicht, um die Homöostase des eigenen Organs und des Organismus aufrecht zu erhalten. Dieses Gewebe ist möglicherweise entzündet wie bei einer Hepatitis oder genauso belastet wie bei einem akuten Leberversagen (ohne zugrunde liegender Operation) und benötigt einen höheren Wachstumsfaktorspiegel, um den Anforderungen gerecht zu werden oder zumindest den Versuch zu starten. Tatsächlich haben Patienten mit einer Hepatitis<sup>72</sup> oder einem ALF<sup>26,56</sup> deutlich höhere HGF-Spiegel im Blut. Die Höhe des Serumspiegels von HGF korrelierte dabei so gut mit dem Ausmaß des ALF, dass am Department of Gastroenterology, Kyoto University Hospital in Japan im Falle eines ALFs regelmäßig HGF-Spiegelmessungen durchgeführt werden<sup>63</sup>, um daran den Schweregrad der Krankheit zu messen und die Prognose einschätzen zu können<sup>28</sup>. Diese Konstellation kann man auch in der vorliegenden Untersuchung (wenn auch nicht signifikant) wiederfinden: Je höher der Schweregrad des PHLFs nach ISGLS-Einteilung, desto höher liegen die Mittelwerte der HGF-Maxima am 1. POD (HGF Maximum: Kein PHLF < PHLF Grad A < PHLF Grad B < PHLF Grad C).

Allerdings wurden ebenfalls Ergebnisse über humanes HGF und den Verlauf der Leberregeneration nach Leberteileresektion veröffentlicht, die keine Zusammenhänge ergaben. Tani et al. und Tomiya et al. schlussfolgerten aus ihren Untersuchungen an 21 Patienten vor 20 Jahren, dass HGF nicht mit der Leberregeneration nach Leberteileresektion korreliert<sup>29,30</sup>, gleichwohl hierbei ebenfalls ein beträchtlicher Anstieg des Wachstumsfaktors mit Maximum am 1. POD verzeichnet werden konnte. Als fragliches Maß der Leberregeneration betrachteten sie die Volumenzunahme der Leber, nicht die Leberfunktion oder der funktionellen Lebermasse (siehe [Abschnitt 5.1.1](#)). Auch wenn in der Untersuchung von Tani et al. und Tomiya et al. der maximale HGF-Spiegel nicht, wie bei Nagetieren beobachtet, mit dem resezierten oder im Körper verbliebenen Lebervolumen korreliert, so konnte doch ebenfalls eine Assoziation des Wachstumsfaktors zur hepatozellulären Dysfunktion (postoperativer Bilirubinspiegel, ALT), Nekrose und systemischer Entzündung (Lymphozyten) festgestellt werden. Diese Korrelation ist der unsrigen sehr ähnlich. Den Anstieg des Proteinlevels im Blut erklärten sie u. a. durch die verminderte HGF-Clearance der Leber nach Resektion<sup>150</sup>. Unter der oben erklärten Voraussetzung, dass die Leberfunktion und Komplikationen, die die Leber betreffen, und nicht die Lebermassezunahme die Leberregeneration definieren, ist die Interpretation von Tani et al. und Tomiya et al. infrage zu stellen. Nicht zuletzt scheint eine Studienpopulation von 21 Patienten zu klein.

Es erscheint auf den ersten Blick wenig logisch, dass ein geschädigtes Lebergewebe mehr proliferativ wirkendes HGF ausschüttet, sich jedoch trotzdem nicht adäquat regeneriert. Währenddessen scheint für komplikationslos regenerierendes Lebergewebe ein niedriger HGF-Spiegel ausreichend zu sein. Die Leber schüttet offensichtlich so viel HGF aus, wie sie braucht. Weshalb synthetisiert das Lebergewebe nicht mehr HGF, um den erschwerten Anforderungen während Komplikationen gerecht zu werden? Würde dieser Mechanismus ausreichen? Gründe dafür, dass ein solcher Mechanismus nicht funktioniert, könnten folgende sein: Entwickelt sich ein postoperatives Leberversagen bzw. die Leber betreffende Komplikationen, ist das Gleichgewicht zwischen Leberregeneration und Leberdysfunktion soweit gestört, dass vor allem die Wirkung von Wachstumsfaktoren an bzw. in der Leber nicht mehr funktioniert<sup>15</sup>. Man kann von einem relativen Mangel von HGF sprechen. Diese Kausalität lässt sich ebenfalls in der Regeneration von zirrhotischem Lebergewebe nachweisen<sup>89</sup>. Nach einer Leberteileresektion regeneriert sich zirrhotisch verändertes Lebergewebe verzögert bzw. schlechter<sup>24,49,151</sup>. Verglichen mit nicht vorgeschädigter Leber weisen die Ratten mit Leberzirrhose nach PHx trotz oder eben wegen der verminderten Regeneration einen höheren Anstieg von HGF im postoperativen Verlauf auf<sup>89</sup>. In andern Publikationen konnte dieser Fakt allerdings nicht bestätigt werden. Deren Ergebnisse suggerieren, dass zirrhotisches Lebergewebe nach PHx sich wegen der erniedrigten HGF- und c-met-Expression nicht ausreichend regeneriert und dadurch versagen kann<sup>24,29</sup>. Dies erklärt sich durch die verminderte Umwandlung von der inaktiven in die aktive Form des Proteins<sup>25</sup>. Masson et al. fanden einen solchen Effekt nur auf Rezeptorebene, nicht aber bezüglich dem Protein HGF<sup>151</sup>. Dies würde dafür sprechen, dass ein relativer Mangel am dem Rezeptor c-MET besteht und durch eine Art Feedback-Mechanismus die erhöhte Synthese von HGF erfolgt. Eine Wirkung ohne ausreichend funktionelles Lebergewebe mit c-MET-Rezeptoren bleibt allerdings aus. So wird HGF als diagnostisch möglicher Faktor in dieser Situation erhöht im Serum messbar. Möglicherweise spielen in dieser Kontroverse diese Details eine sehr große Rolle<sup>17</sup>. Solange das Gleichgewicht der Leberregeneration zwischen potentiell vitalem, funktionstüchtigem Gewebe und fibrotisch-zirrhotischem, funktionslosem Lebergewebe mehr auf der Seite von zuerst Genanntem liegt, kann man davon ausgehen, dass Wachstumsfaktoren produziert werden und ebenfalls eine proliferative Wirkung erzielen können. Dies kann der Fall sein, obwohl Entzündung, Apoptose, Ödem, Blutung und oder eine Leberfunktionsminderung vorliegt, wie es bei einem postoperativem Leberversagen oder die Leber betreffende

Komplikationen bis hin zum LF-RD der Fall sein kann. So wird HGF im frühen Status einer alkoholischen Hepatitis überexprimiert. Schreitet die Krankheit weiter voran, wird in Zirrhosearealen der Leber eine geringere HGF-Expression verzeichnet<sup>152</sup>. Die Uneinigkeit über den Einfluss von Leberzirrhose auf den Wachstumsfaktorstatus der Leber ist ein Grund für das Ausschlusskriterium einer fortgeschrittenen Lebererkrankung (histologisch/ bildmorphologisch gesicherte Leberzirrhose bzw. präoperativer LiMAX-Wert <311 µg/kg/h). Ferner muss in Betracht gezogen werden, dass HGF nicht nur von den Stromazellen der Leber<sup>68-71</sup>, sondern auch von vielen andern Zellen synthetisiert werden kann und wird<sup>61,65</sup>. So wirkt der Wachstumsfaktor para<sup>59</sup>- aber auch endokrin<sup>60,73</sup>. Besonders im Zuge von Entzündungs- und Heilungsprozessen an der Leber wie auch an anderen Stellen des Körpers (Wundheilung<sup>153</sup>, Glucosemetabolismus<sup>154</sup>, Schleimhauterosionen<sup>155</sup> und ischämischer Lungenschaden<sup>156,157</sup>) während komplikationsreichen postoperativen Verläufen kann das eine große Rolle spielen und nicht nur die in unserer Untersuchung gefundenen Ergebnisse verfälschen. Außerdem existieren Feedbackmechanismen, die ein Organ vor übermäßiger Proliferation und damit potentiell Tumorwachstum bewahren. So kann man die vermehrte HGF-Ausschüttung als Versuch des Organs werten, ihren Ansprüchen gerecht zu werden. Die Forschungsergebnisse der Arbeitsgruppe um Tsubouchi et al. waren nicht die einzigen, die in der HGF-Aktivität eine Reflektion des Selbstverteidigungsmechanismus der Leber sehen. Dieser Vorgang ist maßgeblich am Prozess der Leberregeneration nach Leberteileresektion beteiligt. Der HGF-Serumspiegel vermag laut den Ergebnissen dieser Untersuchung fähig zu sein, die Leberfunktionskapazität bzw. das durchschnittliche Ausmaß der Leberschädigung widerzuspiegeln<sup>56,72</sup> und kann Hinweise auf das Outcome nach Leberteileresektion geben. Nicht zuletzt verspricht die Entwicklung von rekombinantem humanem HGF (rhHGF) Behandlungsmöglichkeiten von Leberversagen und Leberzirrhose<sup>57</sup>, weshalb die Arbeitsgruppe Ido et al. zusammen mit Pharmafirmen an rhHGF als einsetzbares Medikament forscht<sup>104,105</sup>. Natürlich muss hierbei die seit langem bekannte potentielle Onkogenität von HGF streng beachtet werden<sup>158</sup>.

### **5.3 Limitationen der Studie**

Die hier vorgelegte Untersuchung wurde als prospektive Studie geplant. Die PHx als experimentelles Modell an Nagetieren wurde lange genutzt, um Pathomechanismen der Initiation, Termination sowie Komplikationen der Leberregeneration zu verstehen. Basierend auf dem Zusammenhang von Wachstumsfaktoren und der Leberregeneration an Nagetieren nach PHx sollten die Wachstumsfaktorspiegel am Menschen nach PHx untersucht werden. Der Vorgang nach Durchführung einer PHx im tierexperimentiellen Modell ist jedoch nur bedingt auf den regenerativen Prozess nach einer Leberteilesektion am Menschen übertragbar<sup>43</sup>. Vielmehr ist der Genesungsprozess nach einer solchen Operation am Menschen von zahlreichen anderen Faktoren abhängig, die im Tiermodell meist ignoriert werden: Das längere Leben vor einer Operation mit der Möglichkeit der chronischen Leber(-vor-)schädigung durch Ernährung, Alkohol oder Drogen; die Schädigung des Blut- oder Galleflusses durch die Raumforderung eines Tumors in der Leber, ein höheres Maß an Gewebsnekrose, andere Abwehrmechanismen des Immunsystems und nicht zuletzt psychische Faktoren, die einen Genesungsprozess beim Menschen beeinflussen. Außerdem ist der Einfluss des Alters auf die Leberregeneration nicht abschließend geklärt<sup>16,143,159,160</sup>. Es existiert ebenfalls die Annahme, dass in einer vorgeschädigten Leber Wachstumsfaktoren, die nach einer Leberteilesektion zwingend benötigt werden, verbraucht sind oder der Speicherstatus dieser Moleküle ein geringerer ist<sup>24</sup>. Dies alles kann sich nachteilig auf die Leberregeneration und damit auf den Anspruch an die Leber auswirken, den zu bewältigenden Aufgaben (Synthese-, Exkretions- und detoxifizierende Vorgänge)<sup>20,21</sup> gerecht zu werden. Außerdem führt dies zu uneinheitlichen Ergebnissen der HGF-Serumspiegel nach PHx und macht diese schwer vergleichbar. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Untersuchung großer Wert darauf gelegt, die Patientengruppe durch die oben genannten Ein- und Ausschlussfaktoren homogener und damit in ihrer präoperativen Leberfunktion vergleichbarer zu machen. Keiner der Patienten hatte eine fortgeschrittene Lebererkrankung, wie eine histologisch bestätigte Leberzirrhose, eine AFLD oder NAFLD. Dafür dienten die Vordiagnosen und anamnestische Angaben der Patienten. Außerdem konnte durch den LiMAX-Test eine gute präoperative Leberfunktion im gesunden Referenzbereich (>311 µg/kg/h) sichergestellt werden. In jenen Fällen, in denen die postoperative Restleber doch ein höheres Maß an Fibrose oder Steatose aufweist, als präoperativ abschätzbar war, kann man davon ausgehen, dass die wenigen

Patienten mit vorbestehenden Leberschäden das postoperative Outcome nicht beeinflussen<sup>15</sup>. Für einen Studieneinschluss musste eine potentiell schädigende Chemotherapie mehr als vier Wochen zurückliegen und die Patienten durften nicht an der Leber voroperiert sein. Unter der Annahme, dass sich eine nicht vorgeschädigte Leber annähernd gleich nach PHx regeneriert, wurde in dieser Studie der perioperative Verlauf von Patienten verglichen. Diese Annahme ist natürlich ein Modell, da bekannt ist, dass jeder menschliche Organismus nicht nur hinsichtlich von Wachstumsfaktoren individuell auf eine Anforderung wie eine solche Operation reagiert. Der Serumspiegel von HGF kann außerdem durch die Gabe von Steroiden, Antikörpern<sup>161</sup>, einem schlecht eingestellten Diabetes mellitus<sup>154</sup> oder einem akutem Nierenversagen<sup>162</sup> verändert werden. Einer Beeinflussung der Studienergebnisse hierdurch wurde mittels strenger Ausschlusskriterien bei Patientenaufnahme in das Studienkollektiv entgegengewirkt. Nicht beeinflussbar war hingegen die intraoperative Cortisolgabe, die zur Reduktion der Entzündung und Ödembildung der Leber standardmäßig während Leberteilresektionen an der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie der Charité erfolgt. Auch die Entwicklung einer postoperativen Cholestase mit fälschlicher Reduktion des HGF-Serumspiegels<sup>15</sup> muss einkalkuliert werden.

Eine akute (laborchemische) Cholestase prä- wie postoperativ stellt eine Leberschädigung bis hin zum PHLF dar und wird in dieser Untersuchung als eine solche behandelt. Ist die Ursache hierfür allerdings mechanisch, steht nicht die erniedrigte Leberfunktionskapazität nach Leberteilresektion am Anfang der Kausalkette, sondern entwickelt sich aus der mechanischen Enge des Gallenwegsabflusses. Präoperativ erhielten alle Fälle mit mechanischer Cholestase eine Gallengangsdrainage zur Verbesserung der Leberfunktion vor PHx. Postoperativ trat kein Fall eines Gallenwegsverschlusses auf, der eine Ableitung oder operative Revision notwendig machte. Trotzdem muss eine Gallenwegsabflussstörung als Ursache bei den hier postoperativ aufgetretenen Cholangitiden (11 Fälle) und Gallenleckagen (20 Fälle davon 10 Mal punktiert) in Betracht gezogen werden. Inwieweit diese als mechanische Cholestase zu bewerten ist, bleibt fraglich. Unabhängig von der Ursache zeigte sich in der Untersuchung, dass eine akute Leberschädigung durch Cholestase prä- und postoperativ eine Korrelation zum erhöhten HGF-Serumspiegel aufweist (Hyperbilirubinämie in PHLF-Klassifikationen nach 50-50-Kriterien und ISGLS-Einteilung enthalten). Ein präoperativ erhöhtes Serumbilirubin korrelierte in der univariaten Analyse

signifikant damit, ob postoperativ ein klinisch relevantes PHLF nach ISGLS-Einteilung oder der LF-RD auftrat.

Denkbar ist ebenfalls ein individueller Ischämie-Reperfusionsschaden durch das intraoperative sogenannte Pringle-Manöver, was unsere Untersuchungen verfälschen könnte. Bei fast allen Patienten, die nach den oben genannten Klassifikationen ein PHLF bis zum LF-RD entwickelten, wurde die Blutzufuhr der Leber intraoperativ für durchschnittlich 20 min unterbrochen (50-50-Kriterien: 5/5 Fälle; PHLF nach ISGLS-Einteilung: 21/26 Fälle; PHLF laut LiMAX am 1. POD: 17/19 Fälle; LF-RD: 4/4 Fälle). In anderen Studien wird ein Pringle-Manöver über 20 min als zu lange bewertet und in Assoziation eines temporären PHLF gesehen<sup>117</sup>. Die Dauer der intraoperativen warmen Ischämie korreliert jedoch nicht signifikant mit der Entwicklung eines PHLFs nach 50-50-Kriterien, nach Einteilung der ISGLS oder des LF-RD. Einzig das PHLF laut LiMAX-Testergebnis hatte einen statistischen Zusammenhang zu der Pringle-Manöver-Zeit. Dies kann in Zusammenschau des sensiblen Testergebnisses des <sup>13</sup>C-Methcetin-Atemtestes betrachtet werden.

Es war in dieser prospektiven Untersuchung nicht möglich, in einem Zeitraum von rund 2,5 Jahren auf eine geeignete und statistisch auswertbare Patientenzahl zu kommen, ohne verschiedene Tumorentitäten sowie Resektionsausmaße miteinander zu vergleichen. Die Patientenpopulation dieser Studie ist hinsichtlich dieser Faktoren inhomogen. Auch wenn in diesem Zeitraum an einem Zentrum für Leberchirurgie wie der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie der Charité eine weitaus größere Anzahl an Leberteileresektionen durchgeführt wird, konnte durch die restriktiv gewählten Kriterien bezüglich des Einschlusses ins Studienkollektiv weitaus nicht jeder Patient eingeschlossen werden, der zur Leberteileresektion vorgesehen war. Zudem wirkte das umfangreiche Studienprotokoll und die hohe Anzahl an Messzeitpunkten über einen längeren Zeitraum auf manche Patienten abschreckend, sodass einer Teilnahme vonseiten einiger Patienten nicht zugestimmt wurde. Viele Patienten kamen nicht aus der näheren Umgebung der Klinik, sodass ihnen die Anfahrt zu Untersuchungen außerhalb des stationären Rahmens nicht oder nur schwer möglich war. Nicht zuletzt diese Umstände bedingten die mangelnde Bereitschaft von vier Patienten, sich nach der stationären Entlassung zu Nachsorgeuntersuchungen einzufinden.

Natürlich waren es zumeist die großen Tumorsektionen (erweiterte Hemihepatektomien, aber auch die Hemihepatektomien), die komplikationsreiche postoperative Verläufe aufzeigten. Keine atypische (Segment-)Resektion hatte ein PHLF.

Folgen wir der Logik, regeneriert sich die Restleber bei kleinen Resektionen gut und kann ihren postoperativen Anforderungen gerecht werden. Deshalb brauchen kleine Resektionen weniger proliferativ wirkende Wachstumsfaktoren wie HGF. Die kleineren Resektionen wiesen in der Tat prinzipiell geringere HGF-Spiegel am 1. POD auf. So können sie als Beispiele für komplikationsarme, postoperative Verläufe gewertet werden. Bei der Analyse in Subgruppen der verschiedenen Tumorentitäten sowie Resektionsausmaßen blieben die Aussagen der hierbei durchgeführten statistischen Analyse in Tendenzen erhalten (statistische Daten nicht gezeigt). Die Fallzahlen sind allerdings zu klein, um statistisch eindeutig verwertbare Ergebnisse zu erzielen.

Unter der Voraussetzung, dass die Entwicklung eines PHLFs oder des LF-RD statistisch nicht signifikant mit der OP-Prozedur und schwach mit dem Resektionsausmaß in ml korreliert, kann die Aussage getroffen werden, dass in dieser Untersuchung die Komplikationen einen größeren Einfluss auf die postoperative Veränderung des HGF-Serumspiegels hat, als die Größe der Resektion. Dem steht allerdings entgegen, dass in früheren Publikationen der HGF-Serumspiegel mit dem Resektionsvolumen korreliert<sup>163</sup>. Um einen Einfluss der Resektionsausmaße auf den HGF-Serumspiegel klarer auszuschließen, ist eine Untersuchung der betrachteten Fragestellung in einem homogeneren Patientenkollektiv notwendig.

Es muss beachtet werden, dass manche Tumore Wachstumsfaktoren ausschütten, um ihr eigenes Wachstum anzuregen. Bisher ist nur das hepatozelluläre Karzinom bekannt, welches potentiell HGF sezernieren könnte. Dies könnte potentiell die Aussagekraft der Serumspiegel verfälschen. Bisher ist allerdings HGF kein Tumormarker zur Feststellung oder Verlaufskontrolle bei Vorliegen eines HCCs.

Wenn man den postoperativen Verlauf verschieden großer Resektionen und zugrunde liegende Tumorentitäten vergleicht, wird die Patientenpopulation inhomogener. Allerdings bedienen sich viele Autoren dieser Methodik, um in derartig umfangreichen Studien auf statistisch auswertbare Zahlen zu kommen<sup>7,22,118</sup>.

In unserer Untersuchung wurden die Messzeitpunkte mit Hinsicht auf den vielversprechenden schnellen Anstieg unmittelbar nach der Leberteileresektion<sup>87</sup> sehr eng zur Operation gewählt (6 h postOP, 1., 2., 3. POD etc.). In andern Studien konnte bei späteren Messungen an Patienten mit einem PHLF kein Anstieg einer HGF-mRNA registriert werden<sup>164</sup>.

Verglichen mit den in der Literatur beschriebenen Inzidenzen eines PHLF trat in dieser Studie das PHLF häufiger auf (klinisch relevantes PHLF nach ISGLS 19,5 %; PHLF laut



LiMAx am 1.POD 14,8 %). Dem kann einerseits die unterschiedliche Definition eines PHLF zugrunde liegen. Ein anderer Umstand ist das hohe Vorkommen von Klaskin-Tumoren mit der Notwendigkeit ausgedehnterer Resektionen mit höherer Komplikationsrate bei Anlage einer biliodigestiven Anastomose, zentralen Leberresektionen und der möglichen Leberverschädigung durch eine präoperativ bestehende Cholestase<sup>7,15,23</sup>. Eine zuletzt genannte starke Leberverschädigung wurde durch einen präoperativen LiMAx-Wert in Normalbereich bei Studieneinschluss ausgeschlossen. Klaskin-Tumore machten in dieser Studie einen großen Teil der operierten Tumorentitäten aus, weil der Studienstandort ein Zentrum für diese Erkrankung darstellt. Das Auftreten des LF-RD entsprach der in der Literatur beschriebenen Inzidenz (Inzidenzzahlen siehe [Abschnitt 5.1](#)). Weiterhin waren Morbiditäts- und Mortalitätsraten dieser Studie vergleichbar mit anderen Untersuchungen<sup>21,23,31,118</sup>. Hervorzuheben ist der Fakt, dass alle während dieser Studie verstorbenen Patienten die Kriterien eines PHLFs erfüllten. Dies kann einerseits Zufall sein, andererseits spielten in deren postoperativen Verläufen zum Teil auch nicht-leber-assoziierte Komplikationen eine Rolle. Inwiefern diese Begebenheiten voneinander zu trennen sind, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

#### **5.4 Ausblick auf den klinischen Nutzen**

Ein Leberversagen nach Leberteileresektion stellt nicht immer eine lebensbedrohliche Komplikation dar. Meist sind die Komplikationen im Rahmen des postoperativen Leberversagens durch eine leberunterstützende Therapie reversibel<sup>118</sup>. Trotzdem bleiben die damit assoziierten Morbiditäts- und Mortalitätsraten hoch, weil es meist wenig zeitlichen Spielraum für therapeutische Interventionen gibt<sup>3</sup>. Durch die Bestimmung des Serumspiegels von HGF am 1. POD könnte dieser zeitliche Spielraum und damit der therapeutische Erfolg vergrößert werden. Die frühere Einleitung von klinischer Patientenüberwachung, engmaschigeren Laborkontrollen, Bildgebung, unterstützender Ernährung, Blutzuckereinstellung und Interventionen zur Reduzierung postoperativer Infektionen könnten die Konsequenz aus einem erhöhten HGF-Wert am 1. POD sein<sup>115</sup>. Eine schnellere Genesung des Patienten, sicherere Chirurgie bei großen PHx sowie eine Verringerung der lebensbedrohlichen Fälle von Leberversagen, der Liegedauer und der Krankenhauskosten ständen in Aussicht.

Die Bewertung des postoperativen Risikos durch HGF im sehr frühen Verlauf nach Leberteilresektion ist unseren Untersuchungen zufolge möglich. Es ist denkbar, dass sich im HGF-Serumspiegel am 1. POD der präoperativen Status, das Ausmaß einer Resektion, der intra- und der postoperativen Kurs vereint.

## 6 Schlussfolgerung

Im untersuchten Patientengut ist das Auftreten eines PHLFs oder des LF-RDs nach PHx mit einem deutlich höheren HGF-Serumspiegel am 1. POD assoziiert. Es zeichnen sich Cutoff-Werte des HGF-Serumspiegels am 1. POD mit hohem prädiktivem Wert für ein PHLF oder den LF-RD ab. Diese sind, abhängig von der Definition eines PHLFs unterschiedlich, liegen aber im Durchschnitt deutlich höher als bei Patienten mit einem unauffälligen Verlauf nach PHx.

Der HGF-Serumspiegel vermag sehr früh ein PHLF oder den LF-RD im postoperativen Verlauf nach PHx anzuzeigen. Um einheitlichere Ergebnisse eines HGF-Cutoff-Wertes für den 1. POD zu erzielen, ist eine einheitliche Definition eines PHLFs nach PHx und die Untersuchung an einer größeren Patientenkohorte notwendig.

## 7 Anhang

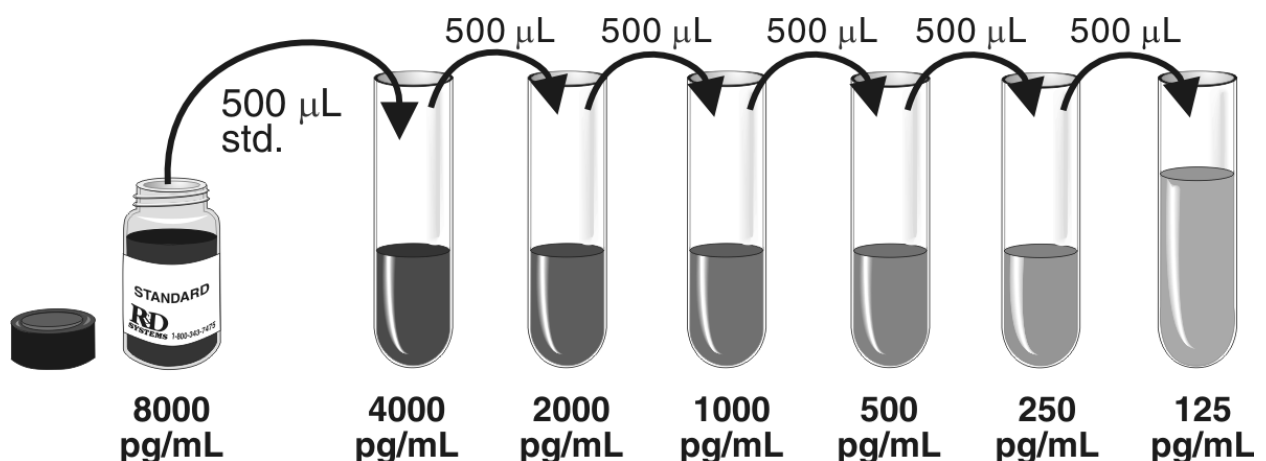
### 7.1 Durchführung: ELISA zur Bestimmung von HGF

Bei der Vorbereitung für die Durchführung der ELISA sollten die Materialien Zimmertemperatur haben, damit sich beispielsweise eventuell auftretende Kristalle im Ansatz des Waschpuffers lösen können.

Um den Waschpuffer anzusetzen, werden 20 ml davon (895003) auf 500 ml Aqua dest. pro Platte verdünnt.

Der Standard (890237) wird mit Aqua dest. gelöst, sodass er eine Ausgangskonzentration von 300 pg/ml hat. Dieser muss 15 Minuten ruhen, bevor er in der Verdünnungsreihe eingesetzt wird. Bei einer Anfangskonzentration von 4000 pg/ml wird die Verdünnungsreihe bis zu einer Endkonzentration von 125 pg/ml durchgeführt. Hierfür wird das erste Röhrchen mit 500 µl Calibrator Diluent RD6F (895152) für Serum und Plasma plus 500 µl Standard vorbereitet. Anschließend wird für das zweite bis achte Röhrchen jeweils 500 µl Calibrator Diluent RD6F vorgelegt und dann analog einer geometrische Verdünnungsreihe (siehe [Abbildung 15](#)) 500 µl pro Röhrchen überpipettiert. Jede Verdünnung muss gut mittels Vortex gemischt werden.

**Abbildung 15:** Standardverdünnungsreihe



Die benötigte Probenverdünnung wurde im Pilotversuch ermittelt.

Für die Durchführung des ELISAs werden entsprechend der Probenanzahl Strips entnommen und in das Halterungssystem eingelegt.

In jedes Well (Standard, Blank und Proben) werden 150 µl Assay Diluent RD 1W (895117) vorgelegt. Dabei handelt es sich um eine proteingepufferte Base, wobei das Protein dazu dient, unspezifische Bindungsstellen in der Platte abzudecken. Es werden nun entsprechend des Belegungsprotokolls die Proben, Blank und Standard in die Wells pipettiert (50 µl/Well). Sodann wird die Platte mit einem coverslip bedeckt, um einer Austrocknung vorzubeugen. Der Inhalt der Platte wird durch vorsichtiges, kreisförmiges Bewegen der Platte gemischt. Hierauf erfolgt eine Inkubation von 2 h bei Zimmertemperatur.

Für das folgende Waschen wird die Platte erst ausgeschlagen und dann etwa 400 µl Waschpuffer pro Well mit einer Spritzflasche auf die Platte gegeben. Dieses Procedere wird insgesamt vier Mal wiederholt. Am Ende sollte die Platte noch einmal gut auf grünen Einmalhandtüchern ausgeschlagen werden, sodass keine Flüssigkeitsreste mehr in den Wells verbleiben, die das Volumen und somit auch die Konzentration der folgenden Lösung verändern würden.

Jetzt werden 200 µl/Well HGF-Konjugat (892539), welches bereits gelöst vorliegt, dazugegeben. Es schließt sich eine erneute Inkubation der Serumproben für 2 h bei Raumtemperatur sowie der Waschvorgang analog dem oben beschriebenen Procedere an.

Vor der Substratzugabe (Color Reagent A 895000/ Color Reagent B 895001) wird jenes zu gleichen Teilen aus den beiden Reagenzien A und B gemischt (z. B. 5 ml + 5 ml). Das fertige Substrat muss 15 Minuten ruhen, bevor es im ELISA eingesetzt wird.

Pro Well werden dann 200 µl des Substratgemisches dazugegeben. Es ist Vorsicht wegen der Lichtempfindlichkeit des Substrats geboten. Deshalb muss die Platte mit einem Cover Slip und zusätzlich abgedeckt werden. Danach folgt eine erneute 20-minütige Inkubation bei Raumtemperatur.

Zum Stoppen der Reaktion werden 50 µl Stop Solution (2N Schwefelsäure) (895032) pro Well hinzugegeben.

Die photometrische Messung erfolgt bei 450 nm (Referenz 540 oder 570 nm) mit einem Plattenphotometer (Fluostar Optima, Fa. BMG Labtech).

## 7.2 HGF-Korrelations-Analyse

**Tabelle 14: HGF-Korrelations-Analyse (Pearson) zwischen allen Zeitpunkten.**

		HGF präOP	HGF 6 h postOP	HGF 1. POD	HGF 2. POD	HGF 3. POD	HGF 5. POD	HGF 10. POD	HGF 90. POD
HGF präOP	Korrelation nach Pearson	1	,042	,075	,111	,304**	,132	,357**	,357**
	Signifikanz (2-seitig)		,645	,406	,221	,001	,148	,007	,007
	N	126	123	126	124	126	124	57	58
HGF 6 h postOP	Korrelation nach Pearson	,042	1	,338**	,435**	,241**	,122	,037	,037
	Signifikanz (2-seitig)	,645		,000	,000	,008	,185	,787	,787
	N	123	125	125	124	122	121	56	56
HGF 1. POD	Korrelation nach Pearson	,075	,338**	1	,643**	,407**	,309**	,078	,078
	Signifikanz (2-seitig)	,406	,000		,000	,000	,001	,566	,566
	N	126	125	128	126	125	124	58	58
HGF 2. POD	Korrelation nach Pearson	,111	,435**	,643**	1	,658**	,499**	,066	,066
	Signifikanz (2-seitig)	,221	,000	,000		,000	,000	,630	,630
	N	124	124	126	126	123	123	57	57
HGF 3. POD	Korrelation nach Pearson	,304**	,241**	,407**	,658**	1	,564**	,061	,061
	Signifikanz (2-seitig)	,001	,008	,000	,000		,000	,653	,653
	N	123	122	125	123	125	122	57	57
HGF 5. POD	Korrelation nach Pearson	,132	,122	,309**	,499**	,564**	1	,077	,077
	Signifikanz (2-seitig)	,148	,185	,001	,000	,000		,576	,576
	N	123	125	124	123	122	124	56	56
HGF 10. POD	Korrelation nach Pearson	,104	,093	,323**	,467**	,503**	,594**	,033	,033
	Signifikanz (2-seitig)	,275	,333	,000	,000	,000	,000	,811	,811
	N	113	112	115	114	112	112	56	56

\*\* . Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

## 8 Verzeichnisse

### 8.1 Abbildungen

<i>Abbildung 1: Primäre Struktur von HGF. ....</i>	15
<i>Abbildung 2: HGF, sein Rezeptor c-Met und die verschiedenen Signalwege.....</i>	17
<i>Abbildung 3: Korrelation zwischen Plasmaspiegeln von HGF und hepatozytärer DNA nach PHx. ....</i>	19
<i>Abbildung 4: Einteilung des postoperativen Outcomes in dieser Untersuchung. ....</i>	27
<i>Abbildung 5: Übersicht über den Studieneinschluss und die ausgeschlossenen Patienten .....</i>	29
<i>Abbildung 6: O-demethylierung von <sup>13</sup>C-Methacetin in der Leber durch das Cytochrom p450 Isoenzym CYP 1A2 <sup>112</sup>.....</i>	33
<i>Abbildung 7: NDIRS-Messgerät FANci2db16., FAN GmbH, Leipzig .....</i>	35
<i>Abbildung 8: Schematischer Gesamtaufbau der Online-Messung. ....</i>	35
<i>Abbildung 9: HGF-Serumspiegel in pg/ml im Verlauf nach Leberteilresektion im gesamten Studienkollektiv. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt; n=128.....</i>	44
<i>Abbildung 10: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt nach 50-50-Kriterien nach Balzan et al. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt. ....</i>	45
<i>Abbildung 11: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt nach der Schweregrade-Einteilung PHLF der ISGLS. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.....</i>	47
<i>Abbildung 12: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt in Gruppe 1: kein klinisch relevantes PHLF und Gruppe 2: klinisch relevantes PHLF nach der PHLF-Schweregrade-Einteilung der ISGLS. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt. ....</i>	49
<i>Abbildung 13: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt PHLF laut LiMAx am 1. POD. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.....</i>	51

<i>Abbildung 14: HGF-Serumspiegel im Verlauf nach Leberteilresektion eingeteilt nach der LF-RD ja oder nein. Gezeigt werden Mittelwerte mit Standardfehler zum jeweiligen Messzeitpunkt.....</i>	<i>52</i>
<i>Abbildung 15: Standardverdünnungsreihe.....</i>	<i>84</i>

## **8.2 Tabellen**

<i>Tabelle 1: Klassifikation chirurgischer Komplikationen. ....</i>	<i>25</i>
<i>Tabelle 2: Wiedergabe der übereinstimmenden Definition und Schweregrade-Einteilung des Posthepatektomie-Leberversagens (Posthepatectomy liver failure, PHLF) der International Study Group of Liver Surgery (ISGLS) in Englisch<sup>20</sup> .....</i>	<i>26</i>
<i>Tabelle 3: Studienprotokoll, Abkürzungen siehe Verzeichnis .....</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 4: Patientencharakteristika, Deskriptive Statistik soziodemographischer und klinischer Charakteristika; Median [25.- 75. Perzentile]; n (%).....</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 5: Komplikationen nach Leberteilresektion bei 128 Patienten.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabelle 6: Deskriptive Analyse der HGF-Serumspiegel in pg/ml aller 128 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten des Studienprotokolls. ....</i>	<i>43</i>
<i>Tabelle 7: Univariate Analyse der Risikofaktoren für die Entwicklung eines PHLF (eingeteilt nach 50-50-Kriterien, nach ISGLS-Definition und laut LiMAX am 1. POD) und eines LF-RD nach einer Leberteilresektion.....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 8: Multivariate logistische Regressionsanalyse der Risikofaktoren für die Entwicklung eines PHLF (eingeteilt nach 50-50-Kriterien, nach ISGLS-Definition und laut LiMAX am 1. POD) und eines LF-RD nach einer Leberteilresektion. ....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 9: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und PHLF nach 50-50-Kriterien. ....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 10: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und PHLF nach ISGLS-Kriterien. ..</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 11: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und PHLF laut LiMAX am 1. POD. ....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 12: ROC-Analysen für HGF-Serumspiegel und LF-RD.....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 13: Cutoff-Werte des HGF-Serumspiegels für die Entstehung eines PHLF (eingeteilt nach 50-50-Kriterien, nach ISGLS-Definition und laut LiMAX am 1. POD) und des LF-RD. ....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 14: HGF-Korrelations-Analyse (Pearson) zwischen allen Zeitpunkten.....</i>	<i>86</i>



## 9 Literaturverzeichnis

1. Khatri VP, Petrelli NJ, Belghiti J. Extending the frontiers of surgical therapy for hepatic colorectal metastases: is there a limit? *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2005;23:8490-9.
2. Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Lam CM, Yuen WK, Yeung C, Wong J. Improving perioperative outcome expands the role of hepatectomy in management of benign and malignant hepatobiliary diseases: analysis of 1222 consecutive patients from a prospective database. *Ann Surg* 2004;240:698-708; discussion -10.
3. Hammond JS, Guha IN, Beckingham IJ, Lobo DN. Prediction, prevention and management of postresection liver failure. *Br J Surg* 2011;98:1188-200.
4. Fortner JG, Blumgart LH. A historic perspective of liver surgery for tumors at the end of the millennium. *Journal of the American College of Surgeons* 2001;193:210-22.
5. Fan ST. Methods and related drawbacks in the estimation of surgical risks in cirrhotic patients undergoing hepatectomy. *Hepatogastroenterology* 2002;49:17-20.
6. Hanazaki K, Kajikawa S, Shimozawa N, Mihara M, Shimada K, Hiraguri M, Koide N, Adachi W, Amano J. Survival and recurrence after hepatic resection of 386 consecutive patients with hepatocellular carcinoma. *Journal of the American College of Surgeons* 2000;191:381-8.
7. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Maema A, Sugawara Y, Sano K, Takayama T, Makuuchi M. One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)* 2003;138:1198-206; discussion 206.
8. Laurent C, Sa Cunha A, Couderc P, Rullier E, Saric J. Influence of postoperative morbidity on long-term survival following liver resection for colorectal metastases. *Br J Surg* 2003;90:1131-6.
9. 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. *Ann Surg* 2009;250:119-25.
10. Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: decision tree incorporating indocyanine green test. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery* 2005;12:16-22.

11. Kubota K, Makuuchi M, Kusaka K, Kobayashi T, Miki K, Hasegawa K, Harihara Y, Takayama T. Measurement of liver volume and hepatic functional reserve as a guide to decision-making in resectional surgery for hepatic tumors. *Hepatology* 1997;26:1176-81.
12. Vauthey JN, Chaoui A, Do KA, Bilimoria MM, Fenstermacher MJ, Charnsangavej C, Hicks M, Alsfasser G, Lauwers G, Hawkins IF, Caridi J. Standardized measurement of the future liver remnant prior to extended liver resection: methodology and clinical associations. *Surgery* 2000;127:512-9.
13. Lock JF, Reinhold T, Malinowski M, Pratschke J, Neuhaus P, Stockmann M. The costs of postoperative liver failure and the economic impact of liver function capacity after extended liver resection--a single-center experience. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft fur Chirurgie* 2009;394:1047-56.
14. Mullin EJ, Metcalfe MS, Maddern GJ. How much liver resection is too much? *American journal of surgery* 2005;190:87-97.
15. Golse N, Bucur PO, Adam R, Castaing D, Sa Cunha A, Vibert E. New paradigms in post-hepatectomy liver failure. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2013;17:593-605.
16. Helling TS. Liver failure following partial hepatectomy. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association* 2006;8:165-74.
17. Garcea G, Maddern GJ. Liver failure after major hepatic resection. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery* 2009;16:145-55.
18. van den Broek MA, Olde Damink SW, Dejong CH, Lang H, Malago M, Jalan R, Saner FH. Liver failure after partial hepatic resection: definition, pathophysiology, risk factors and treatment. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2008;28:767-80.
19. Belghiti J, Hiramatsu K, Benoist S, Massault P, Sauvanet A, Farges O. Seven hundred forty-seven hepatectomies in the 1990s: an update to evaluate the actual risk of liver resection. *Journal of the American College of Surgeons* 2000;191:38-46.
20. Rahbari NN, Garden OJ, Padbury R, Brooke-Smith M, Crawford M, Adam R, Koch M, Makuuchi M, Dematteo RP, Christophi C, Banting S, Usatoff V, Nagino M, Maddern G, Hugh TJ, Vauthey JN, Greig P, Rees M, Yokoyama Y, Fan ST, Nimura Y, Figueras J, Capussotti L, Buchler MW, Weitz J. Posthepatectomy liver failure: a definition and grading by the International Study Group of Liver Surgery (ISGLS). *Surgery* 2011;149:713-24.
21. Rahbari NN, Reissfelder C, Koch M, Elbers H, Striebel F, Buchler MW, Weitz J. The predictive value of postoperative clinical risk scores for outcome after hepatic

resection: a validation analysis in 807 patients. *Annals of surgical oncology* 2011;18:3640-9.

22. Balzan S, Belghiti J, Farges O, Ogata S, Sauvanet A, Delefosse D, Durand F. The "50-50 criteria" on postoperative day 5: an accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy. *Ann Surg* 2005;242:824-8, discussion 8-9.

23. Jarnagin WR, Gonen M, Fong Y, DeMatteo RP, Ben-Porat L, Little S, Corvera C, Weber S, Blumgart LH. Improvement in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1,803 consecutive cases over the past decade. *Ann Surg* 2002;236:397-406; discussion -7.

24. Corpechot C, Barbu V, Wendum D, Chignard N, Housset C, Poupon R, Rosmorduc O. Hepatocyte growth factor and c-Met inhibition by hepatic cell hypoxia: a potential mechanism for liver regeneration failure in experimental cirrhosis. *Am J Pathol* 2002;160:613-20.

25. Kaibori M, Inoue T, Sakakura Y, Oda M, Nagahama T, Kwon AH, Kamiyama Y, Miyazawa K, Okumura T. Impairment of activation of hepatocyte growth factor precursor into its mature form in rats with liver cirrhosis. *The Journal of surgical research* 2002;106:108-14.

26. Tsubouchi H, Hirono S, Gohda E, Nakayama H, Takahashi K, Sakiyama O, Miyazaki H, Sugihara J, Tomita E, Muto Y. Clinical significance of human hepatocyte growth factor in blood from patients with fulminant hepatic failure. *Hepatology* 1989;9:875-81.

27. Tsubouchi H, Hirono S, Gohda E, Nakayama H, Takahashi K, Sakiyama O, Kimoto M, Kawakami S, Miyoshi H, Kubozono O. Human hepatocyte growth factor in blood of patients with fulminant hepatic failure. I. Clinical aspects. *Digestive diseases and sciences* 1991;36:780-4.

28. Uto H, Ido A, Kusumoto K, Hasuike S, Nagata K, Hayashi K, Yamagishi T, Gohda E, Tsubouchi H. Development of a rapid semi-quantitative immunochromatographic assay for serum hepatocyte growth factor and its usefulness in acute liver failure. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2005;33:272-6.

29. Tani M, Tomiya T, Yamada S, Hayashi S, Yahata K, Tamura Y, Akiyama M, Kawai S, Masaki N, Fujiwara K. Regulating factors of liver regeneration after hepatectomy. *Cancer chemotherapy and pharmacology* 1994;33 Suppl:S29-32.

30. Tomiya T, Tani M, Yamada S, Hayashi S, Umeda N, Fujiwara K. Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology* 1992;103:1621-4.
31. Mullen JT, Ribero D, Reddy SK, Donadon M, Zorzi D, Gautam S, Abdalla EK, Curley SA, Capussotti L, Clary BM, Vauthey JN. Hepatic insufficiency and mortality in 1,059 noncirrhotic patients undergoing major hepatectomy. *Journal of the American College of Surgeons* 2007;204:854-62; discussion 62-4.
32. Vauthey JN, Pawlik TM, Abdalla EK, Arens JF, Nemr RA, Wei SH, Kennamer DL, Ellis LM, Curley SA. Is extended hepatectomy for hepatobiliary malignancy justified? *Ann Surg* 2004;239:722-30; discussion 30-2.
33. Figueras J, Llado L, Ruiz D, Ramos E, Busquets J, Rafecas A, Torras J, Fabregat J. Complete versus selective portal triad clamping for minor liver resections: a prospective randomized trial. *Ann Surg* 2005;241:582-90.
34. Menon KV, Al-Mukhtar A, Aldouri A, Prasad RK, Lodge PA, Toogood GJ. Outcomes after major hepatectomy in elderly patients. *Journal of the American College of Surgeons* 2006;203:677-83.
35. Hemming AW, Reed AI, Fujita S, Zendejas I, Howard RJ, Kim RD. Role for extending hepatic resection using an aggressive approach to liver surgery. *Journal of the American College of Surgeons* 2008;206:870-5; discussion 5-8.
36. Nakano H, Oussoultzoglou E, Rosso E, Casnedi S, Chenard-Neu MP, Dufour P, Bachellier P, Jaeck D. Sinusoidal injury increases morbidity after major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases receiving preoperative chemotherapy. *Ann Surg* 2008;247:118-24.
37. McCormack L, Petrowsky H, Jochum W, Furrer K, Clavien PA. Hepatic steatosis is a risk factor for postoperative complications after major hepatectomy: a matched case-control study. *Ann Surg* 2007;245:923-30.
38. Karoui M, Penna C, Amin-Hashem M, Mitry E, Benoist S, Franc B, Rougier P, Nordlinger B. Influence of preoperative chemotherapy on the risk of major hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 2006;243:1-7.
39. Adam R, Aloia T, Levi F, Wicherts DA, de Haas RJ, Paule B, Bralet MP, Bouchahda M, Machover D, Ducreux M, Castagne V, Azoulay D, Castaing D. Hepatic resection after rescue cetuximab treatment for colorectal liver metastases previously refractory to conventional systemic therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2007;25:4593-602.

40. Reissfelder C, Rahbari NN, Koch M, Kofler B, Sutedja N, Elbers H, Buchler MW, Weitz J. Postoperative course and clinical significance of biochemical blood tests following hepatic resection. *Br J Surg* 2011;98:836-44.
41. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The LiMAx test: a new liver function test for predicting postoperative outcome in liver surgery. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association* 2010;12:139-46.
42. Assy N, Minuk GY. Liver regeneration: methods for monitoring and their applications. *J Hepatol* 1997;26:945-52.
43. Duncan AW, Soto-Gutierrez A. Liver repopulation and regeneration: new approaches to old questions. *Current opinion in organ transplantation* 2013;18:197-202.
44. Michalopoulos GK. Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 1990;4:176-87.
45. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science (New York, NY)* 1997;276:60-6.
46. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nature reviews Molecular cell biology* 2004;5:836-47.
47. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006;43:S45-53.
48. Anderson RM HG. Experimental pathology of the liver. *Arch Pathol* 1931;Vol 12:(186-92).
49. Chen MF, Hwang TL, Hung CF. Human liver regeneration after major hepatectomy. A study of liver volume by computed tomography. *Ann Surg* 1991;213:227-9.
50. Riehle KJ, Dan YY, Campbell JS, Fausto N. New concepts in liver regeneration. *J Gastroenterol Hepatol* 2011;26 Suppl 1:203-12.
51. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol* 2007;213:286-300.
52. Ponzetto C, Bardelli A, Zhen Z, Maina F, dalla Zonca P, Giordano S, Graziani A, Panayotou G, Comoglio PM. A multifunctional docking site mediates signaling and transformation by the hepatocyte growth factor/scatter factor receptor family. *Cell* 1994;77:261-71.
53. Furge KA, Zhang YW, Vande Woude GF. Met receptor tyrosine kinase: enhanced signaling through adapter proteins. *Oncogene* 2000;19:5582-9.

54. Comoglio PM. Pathway specificity for Met signalling. *Nature cell biology* 2001;3:E161-2.
55. Huh CG, Factor VM, Sanchez A, Uchida K, Conner EA, Thorgeirsson SS. Hepatocyte growth factor/c-met signaling pathway is required for efficient liver regeneration and repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004;101:4477-82.
56. Shiota G, Okano J, Kawasaki H, Kawamoto T, Nakamura T. Serum hepatocyte growth factor levels in liver diseases: clinical implications. *Hepatology* 1995;21:106-12.
57. Mizuno S, Nakamura T. Hepatocyte growth factor: a regenerative drug for acute hepatitis and liver cirrhosis. *Regenerative medicine* 2007;2:161-70.
58. Nakamura T, Mizuno S. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proceedings of the Japan Academy Series B, Physical and biological sciences* 2010;86:588-610.
59. Matsumoto K, Nakamura T. Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *Journal of biochemistry* 1996;119:591-600.
60. Zarnegar R, DeFrances MC, Kost DP, Lindroos P, Michalopoulos GK. Expression of hepatocyte growth factor mRNA in regenerating rat liver after partial hepatectomy. *Biochemical and biophysical research communications* 1991;177:559-65.
61. Miyazawa K, Kitamura A, Naka D, Kitamura N. An alternatively processed mRNA generated from human hepatocyte growth factor gene. *European journal of biochemistry / FEBS* 1991;197:15-22.
62. Zarnegar R, Michalopoulos G. Purification and biological characterization of human hepatopoietin A, a polypeptide growth factor for hepatocytes. *Cancer research* 1989;49:3314-20.
63. Ido A, Tsubouchi H. Translational research to identify clinical applications of hepatocyte growth factor. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2009;39:739-47.
64. Miyazawa K, Tsubouchi H, Naka D, Takahashi K, Okigaki M, Arakaki N, Nakayama H, Hirono S, Sakiyama O, Takahashi K. Molecular cloning and sequence analysis of cDNA for human hepatocyte growth factor. *Biochemical and biophysical research communications* 1989;163:967-73.
65. Tashiro K, Hagiya M, Nishizawa T, Seki T, Shimonishi M, Shimizu S, Nakamura T. Deduced primary structure of rat hepatocyte growth factor and expression of the mRNA

in rat tissues. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1990;87:3200-4.

66. Masumoto A, Yamamoto N. Sequestration of a hepatocyte growth factor in extracellular matrix in normal adult rat liver. Biochemical and biophysical research communications 1991;174:90-5.

67. Liu ML, Mars WM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Uptake and distribution of hepatocyte growth factor in normal and regenerating adult rat liver. Am J Pathol 1994;144:129-40.

68. Schirmacher P, Geerts A, Jung W, Pietrangelo A, Rogler CE, Dienes HP. The role of Ito cells in the biosynthesis of HGF-SF in the liver. Exs 1993;65:285-99.

69. Kiiasov AP, Gumerova AA. [The Ito cells in ontogenesis and liver regeneration]. Tsitologiya 2002;44:342-9.

70. Maher JJ. Cell-specific expression of hepatocyte growth factor in liver. Upregulation in sinusoidal endothelial cells after carbon tetrachloride. The Journal of clinical investigation 1993;91:2244-52.

71. Noji S, Tashiro K, Koyama E, Nohno T, Ohyama K, Taniguchi S, Nakamura T. Expression of hepatocyte growth factor gene in endothelial and Kupffer cells of damaged rat livers, as revealed by in situ hybridization. Biochemical and biophysical research communications 1990;173:42-7.

72. Tsubouchi H, Niitani Y, Hirono S, Nakayama H, Gohda E, Arakaki N, Sakiyama O, Takahashi K, Kimoto M, Kawakami S. Levels of the human hepatocyte growth factor in serum of patients with various liver diseases determined by an enzyme-linked immunosorbent assay. Hepatology 1991;13:1-5.

73. Lindroos PM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Hepatocyte growth factor (hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. Hepatology 1991;13:743-50.

74. Zarnegar R, Muga S, Rahija R, Michalopoulos G. Tissue distribution of hepatopoietin-A: a heparin-binding polypeptide growth factor for hepatocytes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1990;87:1252-6.

75. Birchmeier C, Gherardi E. Developmental roles of HGF/SF and its receptor, the c-Met tyrosine kinase. Trends in cell biology 1998;8:404-10.

76. Schuppan D, Schmid M, Somasundaram R, Ackermann R, Ruehl M, Nakamura T, Riecken EO. Collagens in the liver extracellular matrix bind hepatocyte growth factor. *Gastroenterology* 1998;114:139-52.
77. Sakata H, Stahl SJ, Taylor WG, Rosenberg JM, Sakaguchi K, Wingfield PT, Rubin JS. Heparin binding and oligomerization of hepatocyte growth factor/scatter factor isoforms. Heparan sulfate glycosaminoglycan requirement for Met binding and signaling. *The Journal of biological chemistry* 1997;272:9457-63.
78. Fujiyoshi M, Ozaki M. Molecular mechanisms of liver regeneration and protection for treatment of liver dysfunction and diseases. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* 2011;18:13-22.
79. Kim TH, Mars WM, Stolz DB, Petersen BE, Michalopoulos GK. Extracellular matrix remodeling at the early stages of liver regeneration in the rat. *Hepatology* 1997;26:896-904.
80. Miyazawa K, Shimomura T, Kitamura A, Kondo J, Morimoto Y, Kitamura N. Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA for a human serine protease responsible for activation of hepatocyte growth factor. Structural similarity of the protease precursor to blood coagulation factor XII. *The Journal of biological chemistry* 1993;268:10024-8.
81. Naldini L, Tamagnone L, Vigna E, Sachs M, Hartmann G, Birchmeier W, Daikuhara Y, Tsubouchi H, Blasi F, Comoglio PM. Extracellular proteolytic cleavage by urokinase is required for activation of hepatocyte growth factor/scatter factor. *The EMBO journal* 1992;11:4825-33.
82. Liu Y, Michalopoulos GK, Zarnegar R. Structural and functional characterization of the mouse hepatocyte growth factor gene promoter. *The Journal of biological chemistry* 1994;269:4152-60.
83. Broten J, Michalopoulos G, Petersen B, Cruise J. Adrenergic stimulation of hepatocyte growth factor expression. *Biochemical and biophysical research communications* 1999;262:76-9.
84. Prat M, Narsimhan RP, Crepaldi T, Nicotra MR, Natali PG, Comoglio PM. The receptor encoded by the human c-MET oncogene is expressed in hepatocytes, epithelial cells and solid tumors. *International journal of cancer Journal international du cancer* 1991;49:323-8.
85. Moriuchi A, Ido A, Nagata Y, Nagata K, Uto H, Hasuike S, Hori T, Hirono S, Hayashi K, Tsubouchi H. A CRE and the region occupied by a protein induced by growth



factors contribute to up-regulation of cyclin D1 expression in hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications* 2003;300:415-21.

86. Garcia-Trevijano ER, Martinez-Chantar ML, Latasa MU, Mato JM, Avila MA. NO sensitizes rat hepatocytes to proliferation by modifying S-adenosylmethionine levels. *Gastroenterology* 2002;122:1355-63.

87. Stolz DB, Mars WM, Petersen BE, Kim TH, Michalopoulos GK. Growth factor signal transduction immediately after two-thirds partial hepatectomy in the rat. *Cancer research* 1999;59:3954-60.

88. Pediaditakis P, Lopez-Talavera JC, Petersen B, Monga SP, Michalopoulos GK. The processing and utilization of hepatocyte growth factor/scatter factor following partial hepatectomy in the rat. *Hepatology* 2001;34:688-93.

89. Mitsue S, Hamanoue M, Tanabe G, Ogura Y, Yoshidome S, Aikou T, Nakamura T. Expression of HGF and TGF-beta 1 mRNA after partial hepatectomy in rats with liver cirrhosis. *Surgery today* 1995;25:237-43.

90. Block GD, Locker J, Bowen WC, Petersen BE, Katyal S, Strom SC, Riley T, Howard TA, Michalopoulos GK. Population expansion, clonal growth, and specific differentiation patterns in primary cultures of hepatocytes induced by HGF/SF, EGF and TGF alpha in a chemically defined (HGM) medium. *The Journal of cell biology* 1996;132:1133-49.

91. Liu ML, Mars WM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Collagenase pretreatment and the mitogenic effects of hepatocyte growth factor and transforming growth factor-alpha in adult rat liver. *Hepatology* 1994;19:1521-7.

92. Patijn GA, Lieber A, Schowalter DB, Schwall R, Kay MA. Hepatocyte growth factor induces hepatocyte proliferation in vivo and allows for efficient retroviral-mediated gene transfer in mice. *Hepatology* 1998;28:707-16.

93. Bussolino F, Di Renzo MF, Ziche M, Bocchietto E, Olivero M, Naldini L, Gaudino G, Tamagnone L, Coffey A, Comoglio PM. Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *The Journal of cell biology* 1992;119:629-41.

94. Kusumoto K, Ido A, Moriuchi A, Katsura T, Kim I, Takahama Y, Numata M, Kodama M, Hasuike S, Nagata K, Uto H, Inui K, Tsubouchi H. Repeated intravenous injection of recombinant human hepatocyte growth factor ameliorates liver cirrhosis but causes albuminuria in rats. *International journal of molecular medicine* 2006;17:503-9.

95. Kaibori M, Kwon AH, Nakagawa M, Wei T, Uetsuji S, Kamiyama Y, Okumura T, Kitamura N. Stimulation of liver regeneration and function after partial hepatectomy in cirrhotic rats by continuous infusion of recombinant human hepatocyte growth factor. *J Hepatol* 1997;27:381-90.
96. Ogura Y, Hamanoue M, Tanabe G, Mitsue S, Yoshidome S, Nuruki K, Aikou T. Hepatocyte growth factor promotes liver regeneration and protein synthesis after hepatectomy in cirrhotic rats. *Hepatogastroenterology* 2001;48:545-9.
97. Ishii T, Sato M, Sudo K, Suzuki M, Nakai H, Hishida T, Niwa T, Umezumi K, Yuasa S. Hepatocyte growth factor stimulates liver regeneration and elevates blood protein level in normal and partially hepatectomized rats. *Journal of biochemistry* 1995;117:1105-12.
98. Okano J, Shiota G, Kawasaki H. Protective action of hepatocyte growth factor for acute liver injury caused by D-galactosamine in transgenic mice. *Hepatology* 1997;26:1241-9.
99. Kosai K, Matsumoto K, Nagata S, Tsujimoto Y, Nakamura T. Abrogation of Fas-induced fulminant hepatic failure in mice by hepatocyte growth factor. *Biochemical and biophysical research communications* 1998;244:683-90.
100. Nomi T, Shiota G, Isono M, Sato K, Kawasaki H. Adenovirus-mediated hepatocyte growth factor gene transfer prevents lethal liver failure in rats. *Biochemical and biophysical research communications* 2000;278:338-43.
101. Kosai K, Matsumoto K, Funakoshi H, Nakamura T. Hepatocyte growth factor prevents endotoxin-induced lethal hepatic failure in mice. *Hepatology* 1999;30:151-9.
102. Masunaga H, Fujise N, Shiota A, Ogawa H, Sato Y, Imai E, Yasuda H, Higashio K. Preventive effects of the deleted form of hepatocyte growth factor against various liver injuries. *European journal of pharmacology* 1998;342:267-79.
103. Ishiki Y, Ohnishi H, Muto Y, Matsumoto K, Nakamura T. Direct evidence that hepatocyte growth factor is a hepatotrophic factor for liver regeneration and has a potent antihepatitis effect in vivo. *Hepatology* 1992;16:1227-35.
104. Ido A, Moriuchi A, Kim I, Numata M, Nagata-Tsubouchi Y, Hasuike S, Uto H, Tsubouchi H. Pharmacokinetic study of recombinant human hepatocyte growth factor administered in a bolus intravenously or via portal vein. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* 2004;30:175-81.
105. Ido A, Moriuchi A, Marusawa H, Ikeda K, Numata M, Yamaji N, Setoyama H, Ida H, Oketani M, Chiba T, Tsubouchi H. Translational research on HGF: A phase I/II study of recombinant human HGF for the treatment of fulminant hepatic failure. *Hepatology*

- research : the official journal of the Japan Society of Hepatology 2008;38 Suppl 1:S88-92.
106. Ido A, Moriuchi A, Numata M, Murayama T, Teramukai S, Marusawa H, Yamaji N, Setoyama H, Kim ID, Chiba T, Higuchi S, Yokode M, Fukushima M, Shimizu A, Tsubouchi H. Safety and pharmacokinetics of recombinant human hepatocyte growth factor (rh-HGF) in patients with fulminant hepatitis: a phase I/II clinical trial, following preclinical studies to ensure safety. *Journal of translational medicine* 2011;9:55.
107. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg* 2004;240:205-13.
108. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *The New England journal of medicine* 2007;356:1545-59.
109. Guengerich FP, Krauser JA, Johnson WW. Rate-limiting steps in oxidations catalyzed by rabbit cytochrome P450 1A2. *Biochemistry* 2004;43:10775-88.
110. Palmer CN, Coates PJ, Davies SE, Shephard EA, Phillips IR. Localization of cytochrome P-450 gene expression in normal and diseased human liver by in situ hybridization of wax-embedded archival material. *Hepatology* 1992;16:682-7.
111. Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, Watkins JB, Klein PD. Clinical diagnosis with the stable isotope <sup>13</sup>C in CO<sub>2</sub> breath tests: methodology and fundamental considerations. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1977;90:412-21.
112. Stockmann M. Habilitationsschrift: Wertigkeit eines neu entwickelten Verfahrens zur Bestimmung der Leberfunktion in der Leberchirurgie (LiMAx-Test). 2009.
113. Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Hoppe S, Rohl RI, Niehues SM, Neuhaus P, Stockmann M. Function and volume recovery after partial hepatectomy: influence of preoperative liver function, residual liver volume, and obesity. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie* 2012;397:1297-304.
114. Saklad M. ASoAA. Grading of patients for surgical procedures. 1941.
115. Wrighton LJ, O'Bosky KR, Namm JP, Senthil M. Postoperative management after hepatic resection. *Journal of Gastrointestinal Oncology* 2012;3:41-7.
116. Sun HC, Qin LX, Wang L, Ye QH, Wu ZQ, Fan J, Tang ZY. Risk factors for postoperative complications after liver resection. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPD INT* 2005;4:370-4.

117. Benzoni E, Lorenzin D, Baccarani U, Adani GL, Favero A, Cojutti A, Bresadola F, Uzzau A. Resective surgery for liver tumor: a multivariate analysis of causes and risk factors linked to postoperative complications. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international : HBPD INT* 2006;5:526-33.
118. Dan RG, Cretu OM, Mazilu O, Sima LV, Iliescu D, Blidisel A, Tirziu R, Istodor A, Hut EF. Postoperative morbidity and mortality after liver resection. Retrospective study on 133 patients. *Chirurgia (Bucharest, Romania : 1990)* 2012;107:737-41.
119. Sabanovic J, Muhovic S, Sarajlic L, Tanovic H, Gavric I, Bajramagic S. Complications of liver resection at clinic of abdominal surgery during three-year period. *Medicinski arhiv* 2013;67:270-1.
120. Shirabe K, Shimada M, Gion T, Hasegawa H, Takenaka K, Utsunomiya T, Sugimachi K. Postoperative liver failure after major hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the modern era with special reference to remnant liver volume. *Journal of the American College of Surgeons* 1999;188:304-9.
121. Behrns KE, Tsiotos GG, DeSouza NF, Krishna MK, Ludwig J, Nagorney DM. Hepatic steatosis as a potential risk factor for major hepatic resection. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 1998;2:292-8.
122. Cherqui D, Benoist S, Malassagne B, Humeres R, Rodriguez V, Fagniez PL. Major liver resection for carcinoma in jaundiced patients without preoperative biliary drainage. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)* 2000;135:302-8.
123. Bosetti C, Levi F, Lucchini F, Zatonski WA, Negri E, La Vecchia C. Worldwide mortality from cirrhosis: an update to 2002. *J Hepatol* 2007;46:827-39.
124. Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)* 2010;28:155-61.
125. Chun YS, Laurent A, Maru D, Vauthey JN. Management of chemotherapy-associated hepatotoxicity in colorectal liver metastases. *The lancet oncology* 2009;10:278-86.
126. Chiappa A, Zbar AP, Audisio RA, Leone BE, Biella F, Staudacher C. Factors affecting survival and long-term outcome in the cirrhotic patient undergoing hepatic resection for hepatocellular carcinoma. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 2000;26:387-92.

127. Mann DV, Lam WW, Magnus Hjelm N, So NM, Yeung DK, Metreweli C, Lau WY. Biliary drainage for obstructive jaundice enhances hepatic energy status in humans: a 31-phosphorus magnetic resonance spectroscopy study. *Gut* 2002;50:118-22.
128. Wakabayashi H, Ishimura K, Izuishi K, Karasawa Y, Maeta H. Evaluation of liver function for hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the liver with damaged parenchyma. *The Journal of surgical research* 2004;116:248-52.
129. Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *The Journal of clinical investigation* 1960;39:592-600.
130. Leevy CM, Smith F, Longueville J, Paumgartner G, Howard MM. Indocyanine green clearance as a test for hepatic function. Evaluation by dichromatic ear densitometry. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1967;200:236-40.
131. Redaelli CA, Dufour JF, Wagner M, Schilling M, Husler J, Krahenbuhl L, Buchler MW, Reichen J. Preoperative galactose elimination capacity predicts complications and survival after hepatic resection. *Ann Surg* 2002;235:77-85.
132. Lee WC, Chen MF. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: how I do it. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery* 2005;12:23-6.
133. Schneider PD. Preoperative assessment of liver function. *The Surgical clinics of North America* 2004;84:355-73.
134. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Puhl G, Pratschke J, Neuhaus P. How to define initial poor graft function after liver transplantation? - a new functional definition by the LiMAx test. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 2010;23:1023-32.
135. 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 Transpl* 2010;16:172-80.
136. George J, Murray M, Byth K, Farrell GC. Differential alterations of cytochrome P450 proteins in livers from patients with severe chronic liver disease. *Hepatology* 1995;21:120-8.
137. Braden B, Faust D, Sarrazin U, Zeuzem S, Dietrich CF, Caspary WF, Sarrazin C. 13C-methacetin breath test as liver function test in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005;21:179-85.
138. Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Andreoli A, De Lorenzo A, Nista EC, Miele L, Cremonini F, Cazzato IA, Grieco A, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Review article: breath

testing for human liver function assessment. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2002;16:1977-96.

139. Riecke B, Neuhaus P, Stockmann M. Major influence of oxygen supply on  $^{13}\text{CO}_2$ : $^{12}\text{CO}_2$  ratio measurement by nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy. *Helicobacter* 2005;10:620-2.

140. Lock JF, Malinowski M, Schwabauer E, Martus P, Pratschke J, Seehofer D, Puhl G, Neuhaus P, Stockmann M. Initial liver graft function is a reliable predictor of tacrolimus trough levels during the first post-transplant week. *Clinical transplantation* 2011;25:436-43.

141. 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. *Annals of hepatology* 2013;12:556-62.

142. Muller SA, Tarantino I, Corazza M, Pianka F, Fornaro J, Beutner U, Luthi C, Schmied BM. A rapid and accurate new bedside test to assess maximal liver function: a case report. *Patient safety in surgery* 2013;7:11.

143. Schroeder RA, Marroquin CE, Bute BP, Khuri S, Henderson WG, Kuo PC. Predictive indices of morbidity and mortality after liver resection. *Ann Surg* 2006;243:373-9.

144. Zimmermann H, Reichen J. Hepatectomy: preoperative analysis of hepatic function and postoperative liver failure. *Digestive surgery* 1998;15:1-11.

145. Erdogan D, Busch OR, Gouma DJ, van Gulik TM. Morbidity and mortality after liver resection for benign and malignant hepatobiliary lesions. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2009;29:175-80.

146. Tsubouchi H, Kawakami S, Hirono S, Miyazaki H, Kimoto M, Arima T, Sekiyama K, Yoshida M, Arakaki N, Daikuhara Y. Prediction of outcome in fulminant hepatic failure by serum human hepatocyte growth factor. *Lancet* 1992;340:307.

147. Higuchi O, Nakamura T. Identification and change in the receptor for hepatocyte growth factor in rat liver after partial hepatectomy or induced hepatitis. *Biochemical and biophysical research communications* 1991;176:599-607.

148. Eguchi S, Kamlot A, Ljubimova J, Hewitt WR, Lebow LT, Demetriou AA, Rozga J. Fulminant hepatic failure in rats: survival and effect on blood chemistry and liver regeneration. *Hepatology* 1996;24:1452-9.

149. Gohda E, Tsubouchi H, Nakayama H, Hirono S, Sakiyama O, Takahashi K, Miyazaki H, Hashimoto S, Daikuhara Y. Purification and partial characterization of

- hepatocyte growth factor from plasma of a patient with fulminant hepatic failure. *The Journal of clinical investigation* 1988;81:414-9.
150. Liu KX, Kato Y, Narukawa M, Kim DC, Hanano M, Higuchi O, Nakamura T, Sugiyama Y. Importance of the liver in plasma clearance of hepatocyte growth factors in rats. *The American journal of physiology* 1992;263:G642-9.
151. Masson S, Scotte M, Francois A, Coeffier M, Provot F, Hiron M, Teniere P, Fallu J, Salier JP, Daveau M. Changes in growth factor and cytokine mRNA levels after hepatectomy in rat with CCl(4)-induced cirrhosis. *The American journal of physiology* 1999;277:G838-46.
152. Fang JW, Bird GL, Nakamura T, Davis GL, Lau JY. Hepatocyte proliferation as an indicator of outcome in acute alcoholic hepatitis. *Lancet* 1994;343:820-3.
153. Yoshida S, Matsumoto K, Tomioka D, Bessho K, Itami S, Yoshikawa K, Nakamura T. Recombinant hepatocyte growth factor accelerates cutaneous wound healing in a diabetic mouse model. *Growth factors (Chur, Switzerland)* 2004;22:111-9.
154. Dai C, Huh CG, Thorgeirsson SS, Liu Y. Beta-cell-specific ablation of the hepatocyte growth factor receptor results in reduced islet size, impaired insulin secretion, and glucose intolerance. *Am J Pathol* 2005;167:429-36.
155. Nakahira R, Mizuno S, Yoshimine T, Nakamura T. The loss of local HGF, an endogenous gastrotrophic factor, leads to mucosal injuries in the stomach of mice. *Biochemical and biophysical research communications* 2006;341:897-903.
156. Sakamaki Y, Matsumoto K, Mizuno S, Miyoshi S, Matsuda H, Nakamura T. Hepatocyte growth factor stimulates proliferation of respiratory epithelial cells during postpneumonectomy compensatory lung growth in mice. *American journal of respiratory cell and molecular biology* 2002;26:525-33.
157. Yamada T, Hisanaga M, Nakajima Y, Mizuno S, Matsumoto K, Nakamura T, Nakano H. Enhanced expression of hepatocyte growth factor by pulmonary ischemia-reperfusion injury in the rat. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000;162:707-15.
158. Scagliotti GV, Novello S, von Pawel J. The emerging role of MET/HGF inhibitors in oncology. *Cancer treatment reviews* 2013.
159. Alfieri S, Carriero C, Caprino P, Di Giorgio A, Sgadari A, Crucitti F, Doglietto GB. Avoiding early postoperative complications in liver surgery. A multivariate analysis of 254 patients consecutively observed. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian*

Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver 2001;33:341-6.

160. Bolder U, Brune A, Schmidt S, Tacke J, Jauch KW, Lohlein D. Preoperative assessment of mortality risk in hepatic resection by clinical variables: a multivariate analysis. *Liver transplantation and surgery : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society* 1999;5:227-37.

161. Michalopoulos GK, Bowen WC, Mulè K, Luo J. HGF-, EGF-, and dexamethasone-induced gene expression patterns during formation of tissue in hepatic organoid cultures. *Gene Expr* 2003;11:55-75.

162. Taman M, Liu Y, Tolbert E, Dworkin LD. Increase urinary hepatocyte growth factor excretion in human acute renal failure. *Clinical nephrology* 1997;48:241-5.

163. Fisher B, Szuch P, Levine M, Fisher ER. A portal blood factor as the humoral agent in liver regeneration. *Science (New York, NY)* 1971;171:575-7.

164. Harrison P, Gove C, Bomford A. Hepatic expression of hepatocyte growth factor gene mRNA in acute liver failure. *Digestive diseases and sciences* 2000;45:1913-20.



## 10 Danksagung

Ich bedanke mich bei

Prof. Dr. Martin Stockmann ganz besonders für die Möglichkeit zur Promotion unter seiner wissenschaftlichen Leitung und die Organisation aller wissenschaftlichen Rahmenbedingungen, der inhaltlichen Beratung der Zwischenbetreuer sowie für die Möglichkeit, klinische Erfahrungen bei dieser Untersuchung erwerben zu dürfen;

Dr. Antje Schulz-Malinowski ganz herzlich für ihre geduldige Einarbeitung und die tatkräftige Unterstützung sowohl bei der Planung, als auch bei der Durchführung der Studie, inklusive der Einholung der Voten der Ethikkommission. Danke außerdem für die vielen organisatorischen Tätigkeiten und die zahlreichen Hinweise und Ratschläge bei der Bearbeitung des Themas, ohne die diese Untersuchung nicht erfolgreich hätte stattfinden können;

Dr. Maciej Malinowski ganz besonders für die zahlreichen wissenschaftlichen Hilfestellungen und Anregungen sowie für die wissenschaftlich fundierte konzeptionelle Arbeit im Hintergrund;

Frau Solvy Wolke überaus für die über Monate und Jahre verlässliche und herzliche Zusammenarbeit. Danke vor allem für die vielen Tätigkeiten und Hilfestellungen im Labor, ohne die diese Studie nicht erfolgreich hätte abgeschlossen werden können;

Frau Juliane Aurich, Tim Reese und Felix Wohlgemuth für die außerordentlich gute Zusammenarbeit;

meiner Familie und meinen Freunden, die mich auf meinem Weg durch das Studium begleitet und immer moralisch unterstützt haben und mir damit die notwendige Ruhe und Sicherheit für die Erstellung dieser Arbeit gaben.

## 11 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Franziska Herrmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Hepatocyte Growth Factor-Serumspiegel als prognostischer Faktor für ein Leberversagen und den leberversagen-assoziierten Tod nach Leberteileresektion am Menschen“ 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 (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE - [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

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 den erfolgten Publikationen

Franziska Herrmann hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Keine

Unterschrift der Doktorandin  
\_\_\_\_\_

## **12 Lebenslauf**

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

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