

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Wolfram Trudo Knoefel

**Untersuchung von Wachstumsfaktoren
nach einer Leberteileresektion –
eine klinisch-experimentelle Studie**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Adrian ben Anwar El-Karmi

2014

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referent: Prof. Dr. med. Jan Schulte am Esch

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Ralf Kubitz

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

American Journal of Transplantation. 6 Suppl. 2:770-771, August 2006.

Krieg, Andreas 1; am Esch, Jan Schulte 1; El-Karmi, Adrian 1; Schmelzle, Moritz 1;
Hosch, Stefan 1; Tustas, Roy Y 1; Knoefel, Wolfram T

A. Krieg, J. Schulte am Esch, M. Schmelzle, R. Tustas, A. El-Karmi, S. Hosch,
W.T. Knoefel (2006):

Stem Cell Factor Levels Do Increase in Patients Subsequent to Hepatectomy With the
Extent of Parenchymal Loss.

Transplantation Proceedings, 2006 Dec; Volume 38, Issue 10, Pages 3556-3558

Zusammenfassung

Fragestellung und Ziele: Bislang ist wenig über die Ausschüttung von stammzellspezifischen Wachstumsfaktoren und Chemokinen nach einer Leberresektion, welche Auswirkungen auf die extrahepatische Stammzellmobilisation, dem lokalen hepatischen Ansiedeln und der Differenzierung bzw. Proliferation von KMSZ haben, bekannt. Ziel dieser Studie ist es einen Einblick in die Rolle der Wachstumsfaktoren bezüglich der Leberregeneration zu erhalten, insbesondere die frühe Ausschüttung und Mobilisation unmittelbar nach einer Leberteileresektion. So sollte der Frage nachgegangen werden, inwiefern das Ausmaß der Leberteileresektion und den damit verbundenen Parenchymverlust mit dem peripher evaluierten Spiegel der stammzellspezifischen Zytokinen hepatocyte growth factor (HGF), stromal-derived factor 1 (SDF-1) und stem cell factor (SCF) sowie den laborchemischen Parametern korreliert.

Patienten und Methoden: Zwecks Vergleichs nach der Leberteileresektion wurde präoperativ (-24h) Blut abgenommen. Weitere Zeitpunkte der Blutentnahme waren intraoperativ, unmittelbar nach Leberteileresektion (0h), 3 Stunden (3h) später, 6 Stunden (6h) später, 12 Stunden (12h) später, 24 Stunden (24h) später und 48 Stunden (48h) später. HGF, SDF-1 und SCF aus Patientenserum wurde mittels ELISA bestimmt. Die Patienten (n=16) wurden, abhängig vom Ausmaß der Leberteileresektion, in drei Gruppen unterteilt. Gruppe I mit einer Leberresektion von < 3 Lebersegmenten, Gruppe II mit einer Leberresektion von 3 – 4 Lebersegmenten und Gruppe III mit einer Leberresektion von 5 – 6 Lebersegmenten.

Ergebnisse: HGF zeigte postoperativ bei allen drei Gruppen ein HGF-Serumspiegelanstieg - unabhängig vom Leberparenchymverlust. Höhepunkt aller drei Gruppen war nahezu bei 24 Stunden postoperativ. SDF-1 ergab bei den Untersuchungen, ohne signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen, einen postoperativen Abfall nach ungefähr 6 Stunden in allen drei Gruppen und anschließendem Anstieg auf nahezu präoperatives Ausgangsniveau nach 48 Stunden. SCF zeigte intraoperativ (0h) in allen drei Gruppen einen signifikanten Abfall. In der Gruppe II (3-4 Segmente) ergab sich dann ein signifikanter SCF Serumanstieg (p= 0.02, gepaarten Student-t-Test) von 82.5 ± 8.8 % unmittelbar vor Leberteileresektion auf 112.4 ± 20.5 % 24 Stunden postoperativ. In der Gruppe III stieg der SCF Serumspiegel signifikant von 82.8 ± 13.0 % vor Leberteileresektion auf 104.6 ± 25.8 % 12 Stunden postoperativ (p= 0.046, gepaarten Student-t-Test). Ausschließlich bei der Gruppe I erkannte man, im Gegensatz zu den anderen Gruppen, dass der SCF Serumspiegel während des gesamten Beobachtungszeitraumes unterhalb des präoperativen Ausgangswertes verlief (p= 0.04, gepaarten Student-t-Test).

Diskussion und Schlussfolgerung: Diese Ergebnisse zeigten höhere Serumspiegel von SCF bei Patienten mit ausgedehnten Leberresektionen im Vergleich zu Resektionen mit geringerem Parenchymverlust. SCF könnte, angelehnt an dem Ausmaß des Leberparenchymverlustes, eine bedeutsame Rolle in der Leberregeneration spielen. Auch im Hinblick auf das restliche Lebervolumen und der Leberfunktion könnte SCF entscheidungsrelevant sein. HGF zeigte postoperativ, unabhängig vom Parenchymverlust, einen Anstieg der Serumkonzentration. SDF-1 scheint keine unmittelbare Schlüsselrolle bei der Leberregeneration nach einem operativ bedingten Parenchymverlust zu haben.

Abkürzungen

α	griechisch alpha
AG	Arbeitsgruppe
A.U.	arbiträrer Einheit
bzgl	bezüglich
bzw.	beziehungsweise
CCC	Cholangiozelluläres Karzinom
c-MET	transmembraner Tyrosinkinase-Zelloberflächenrezeptor
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Salze der Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	epidermal growth factor
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
ERCP	endoskopisch retrograde Cholangiopankreatikographie
EU	ELISA-Einheiten, (engl.: ELISA units)
FGF	fibroblast growth factor
°C	Grad Celsius
g	„Kraft in Zentrifuge“
gamma-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
g/dl	Gramm pro Deziliter
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HGF	hepatocyte growth factor
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
IGF	insulin like growth factor
INR	International Normalized Ratio
IL-8	Interleukin-8
Kap.	Kapitel

VII

kD	kilo-Dalton
konz.	konzentriert
KMSZ	Knochenmark-Stammzellen
μ	mikro(x10 ⁻⁶)
mg/dl	milligramm pro deziliter
min	Minute(n)
ml	Milliliter
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
NOD	Non-Obese Diabetic
/nl	pro Nanoliter
o.g.	oben genannten
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
%	Prozent
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
SCF	stem cell factor
SCID	Severe Combined Immunodeficiency
SDF-1	stromal cell-derived factor-1
SPSS	Statistical Package for Social Science
U/l	Unit pro Liter
u.	und
vgl.	vergleiche
(w/m)	(weiblich/männlich)
ZVK	Zentraler Venenkatheter

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Anatomischer Aufbau und Terminologie der Leber	1
1.2	Funktionell chirurgische Anatomie der Lebersegmente	3
1.3	Indikationen zur Leberresektion	5
1.4	Leberresektionsverfahren	5
1.5	Knochenmark-Stammzellen und Leberregeneration	8
1.6	Zielsetzung dieser Arbeit	12
2.	Patienten, Material und Methoden	13
2.1	Patienten und Probanden	15
2.2	Blutproben	12
2.3	Laborgeräte, Material und Reagenzien	12
2.3.1	Laborgeräte	12
2.3.2	Plastikwaren und Einwegartikel	14
2.3.3	Molekularbiologische ELISA - Kits	14
2.3.4	Reagenzien der Molekularbiologischen ELISA - Kits	14
2.3.5	Sonstige Reagenzien	15
2.4	Software und Server	15
2.4.1	Software	15
2.4.2	Server	15
2.5	Studienbeschreibung	16
2.6	Methoden	16
2.6.1	Aufbereitung der Blutproben	16
2.6.2	Bestimmung von humanem HGF, humanem SDF-1 α und humanem SCF mittels ELISA	17
2.7	Statistische Auswertungen	20
3.	Ergebnisse	21
3.1	Studienpatienten	21
3.2	Laborchemische Untersuchungen	22
3.2.1	GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) - Marker des Leberschadens	23
3.2.2	GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) - Marker des Leberschadens	24

3.2.3	gamma-GT (Gamma-Glutamyl-Transferase) - Marker des Leberschadens	25
3.2.4	Serumbilirubin (gesamt) - Marker der Leberfunktion	26
3.2.5	INR (International Normalized Ratio) - Marker der Leberfunktion	27
3.2.6	Leukozyten- Entzündungsreaktion.....	28
3.2.7	CRP (C-reaktives Protein) - Entzündungsreaktion	29
3.2.8	Hämoglobin - Blutverlust.....	30
3.2.9	Thrombozyten - Zelluläre Gerinnung	31
3.3	Proteinchemische Untersuchungen (ELISA)	32
3.3.1	HGF (hepatocyte growth factor)	33
3.3.2	SDF-1 (stromal cell-derived factor-1).....	34
3.3.3	SCF (stem cell factor)	35
4.	Diskussion	37
4.1	Patientencharakteristika	37
4.2	Laborchemie.....	38
4.2.1	Leberschaden.....	38
4.2.2	Hepatische Funktion	39
4.2.3	Entzündung & Akute-Phase-Reaktion	41
4.2.4	Blutverlust	42
4.2.5	Zelluläre Gerinnung	42
4.3	Zytokine	43
4.3.1	HGF (hepatocyte growth factor)	43
4.3.2	SDF-1 (stromal cell-derived factor-1).....	45
4.3.3	SCF (stem cell factor)	48
5.	Schlussfolgerung u. mögliche Weiterentwicklung	51
6.	Literaturverzeichnis	52

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1: Makroskopische Ansicht der Leber [DRENCKHAHN 1994]
- Abb. 2: Funktionelle Trennungslinie der Leber [CANTLIE 1897]
- Abb. 3 : Chirurgische Segmententeilung nach Couineaud [KLEMPNAUER 1997]
- Abb. 4: Nomenklatur der Leberresektion [NAGEL 2005]
- Abb. 5: HGF als Schlüsselrolle in der Hämatopoese [MATSUDA-HASHII 2004]
- Abb. 6: ELISA – Prinzip
- Abb. 7: ELISA – Standardkurven (humanes HGF und SDF-1 α)
- Abb. 8: ELISA – Standardkurve (humanes SCF)
- Abb. 9: GOT (Referenzbereich <35 U/l)
- Abb. 10: GPT (Referenzbereich <34 U/l)
- Abb. 11: gamma-GT (Referenzbereich <38 U/l)
- Abb. 12: Serumbilirubin (gesamt) (Referenzbereich 0.2-1.3 mg/dl)
- Abb. 13: INR (Referenzbereich 0.9-1.1)
- Abb. 14: Leukozyten (Referenzbereich 4 - 10 /nl)
- Abb. 15: CRP (Referenzbereich 0.0 - 1.0 mg/dl)
- Abb. 16: Hämoglobin (Referenzbereich 11.6 – 15.6 g/dl)
- Abb. 17: Thrombozyten (Referenzbereich 150-350 /nl)
- Abb. 18: HGF – Serumspiegel
- Abb. 19: SDF-1 – Serumspiegel
- Abb. 20: SCF – Serumspiegel

Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Patienten, Größe der Gruppe und relevante Merkmale

1. Einleitung

Experimentelle Daten legen nahe, dass extrahepatische Stammzellen an der aktiven Leberregeneration beteiligt sind [PETERSEN 1999, ALISON 2000, SCHULTE AM ESCH 2nd 2005, FÜRST 2007]. Die genauen Mechanismen, wo Knochenmarkstammzellen (KMSZ) die Leberregeneration fördern, bleiben weiterhin kontrovers diskutiert.

Einige Autoren favorisieren die Meinung, dass KMSZ sich mit Hepatozyten zusammenschließen. Andere Arbeitsgruppen zeigten, dass sich KMSZ, ohne Anzeichen für einen Zusammenschluss mit Hepatozyten, in Hepatozyten umwandeln [TERADA 2002, NEWSOME 2003].

Diese Arbeit beschäftigt sich mit den biologischen Zusammenhängen der Leberregeneration und versucht, einen Einblick zwischen den Wachstumsfaktoren, den Chemokinen und der Leberschädigung herzustellen. Im Folgenden werden zunächst einige Grundlagen zum Thema Leberschädigung und seiner Therapiemöglichkeiten erläutert, bevor sich dann den untersuchten Wachstumsfaktoren SCF, SDF-1 und HGF gewidmet wird und diese im Kontext dargestellt werden.

1.1 Anatomischer Aufbau und Terminologie der Leber

Die Leber, Hepar, ist das zentrale Stoffwechselorgan und die größte Drüse des Körpers. Die menschliche Leber wiegt gewöhnlich zwischen 1200 bis 1800g und liegt unmittelbar unter dem Zwerchfell, größtenteils im rechten Oberbauch, in der Regio hypochondriaca. [LEONHARDT 1987, DRENCKHAHN 1994].

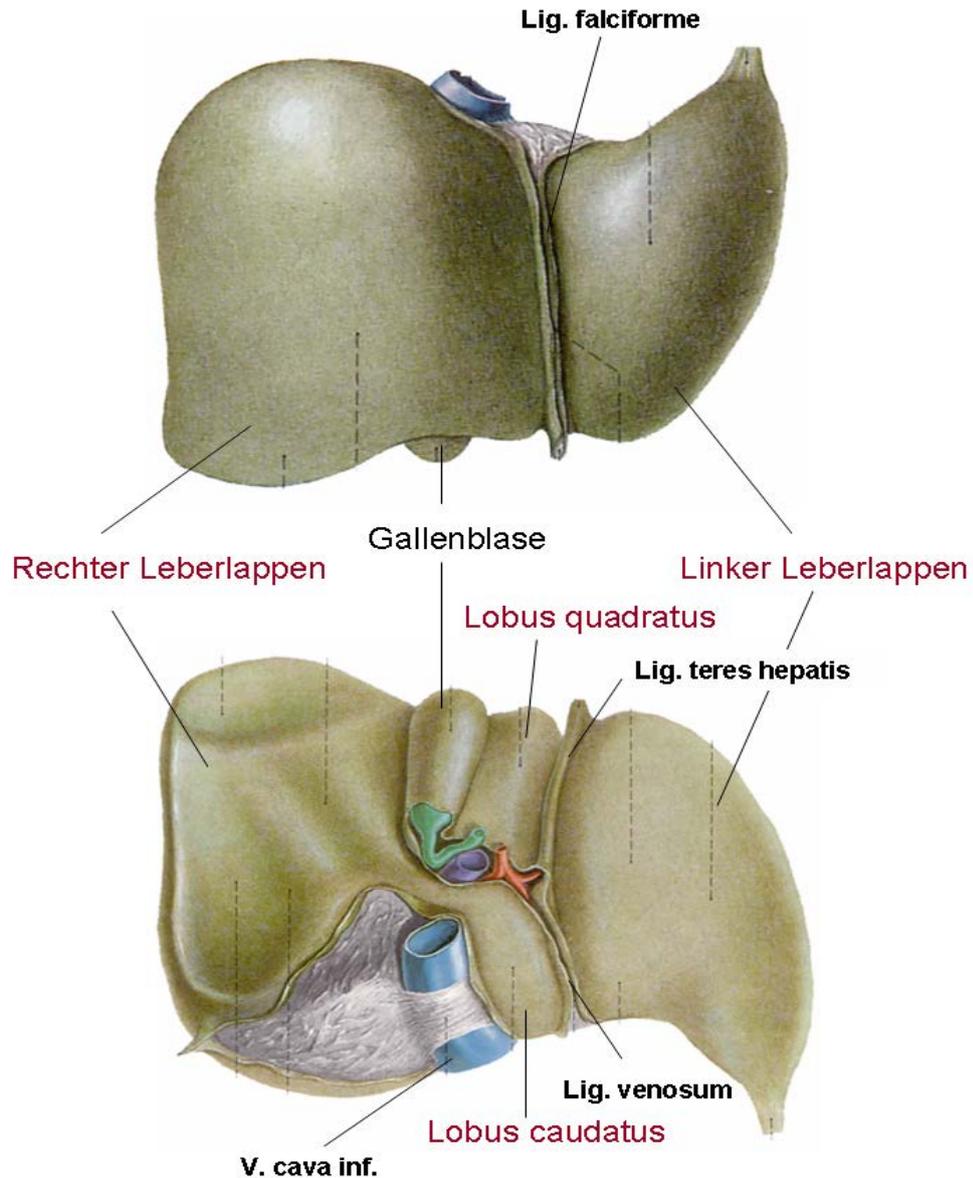


Abb. 1: Makroskopische Ansicht der Leber [DRENCKHAHN 1994]

Das Lig. falciforme an der Vorderseite teilt die Leber anatomisch in zwei große Leberlappen. Der rechte Leberlappen, Lobus hepatis dexter, liegt unter dem Zwerchfell und ist mit diesem teilweise verwachsen. Er ist größer als der linke Leberlappen, Lobus hepatis sinister, welcher bis in den linken Oberbauch gelegen ist. An der Eingeweidefläche finden sich zwischen dem rechten und linken Leberlappen deutlich kleiner der Lobus quadratus und Lobus caudatus. Diese werden durch das Lig. teres hepatis, das aus der obliterierten Nabelvene entstanden ist und das Lig. venosum zum linken Leberlappen und durch die V. cava inf. und das Gallenblasenbett zum rechten

Leberlappen hin abgegrenzt. Dazwischen liegt die Leberpforte, Porta hepatis, über welche die V.portae und noch weiter medial die A.hepatica propria sowie zahlreiche Nervenfasern in die Leber eintreten und der Gallengang die Leber verlässt.

Die Leberarterie, A.hepatica propria, transportiert das sauerstoffreiche Blut vom Herzen zur Leber, die Pfortader, V.portae, sammelt das Blut aus den unpaaren Bauchorganen (Magen, Dünndarm, Dickdarm, Teile des Mastdarms, Bauchspeicheldrüse, Milz) und führt es der Leber in Form nährstoffreichen Blutes zu [LEONHARDT 1987].

Die Gallenblase liegt in der Fossa vesicae biliaris der Leber an und ist durch den Ductus cysticus mit dem Gallengang verbunden. Als vesikuläres Hohlorgan speichert sie einen Teil der in der Leber produzierten Galle. [DRENCKHAHN 1994].

1.2 Funktionell chirurgische Anatomie der Lebersegmente nach Couinaud

Bei der Planung von Leberresektionen sind exakte Kenntnisse der funktionellen Anatomie einschließlich der arteriellen und portalvenösen Versorgung sowie der lebervenösen Drainage essenziell, um Resektionen zu realisieren, die das verbleibende Leberparenchym möglichst wenig beeinträchtigen.

Die Geschichte der funktionellen Leberanatomie beginnt mit J. Cantlie 1897, der durch Injektion von Farbstoff in die Pfortader zeigte, dass die Grenze zwischen linkem und rechtem Leberlappen nicht wie meist angenommen am Lig. falciforme verläuft, sondern entlang einer Orientierungslinie von der Gallenblase bis zur V. cava inf. (Cantlie-Linie). Diese Grenzebene nach J. Cantlie unterteilt die Leber in zwei funktionell unabhängige Hälften (Abb. 2) [CANTLIE 1897].

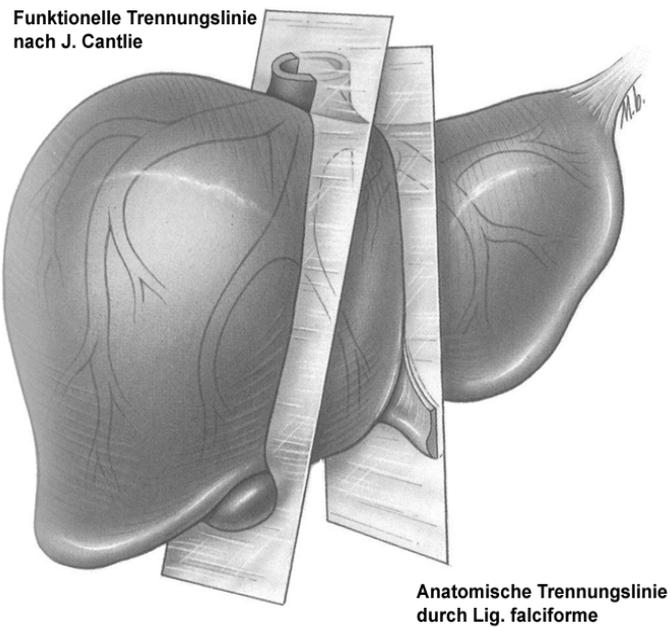


Abb. 2: Trennungslinien der Leber [CANTLIE 1897]

Die detaillierte Unterteilung der Leber in 8 funktionelle Lebersegmente erfolgte 1954 durch C. Couinaud und entspricht der Aufzweigung der portalen Strukturen und der Verlauf der drei Lebervenen (Abb. 3).

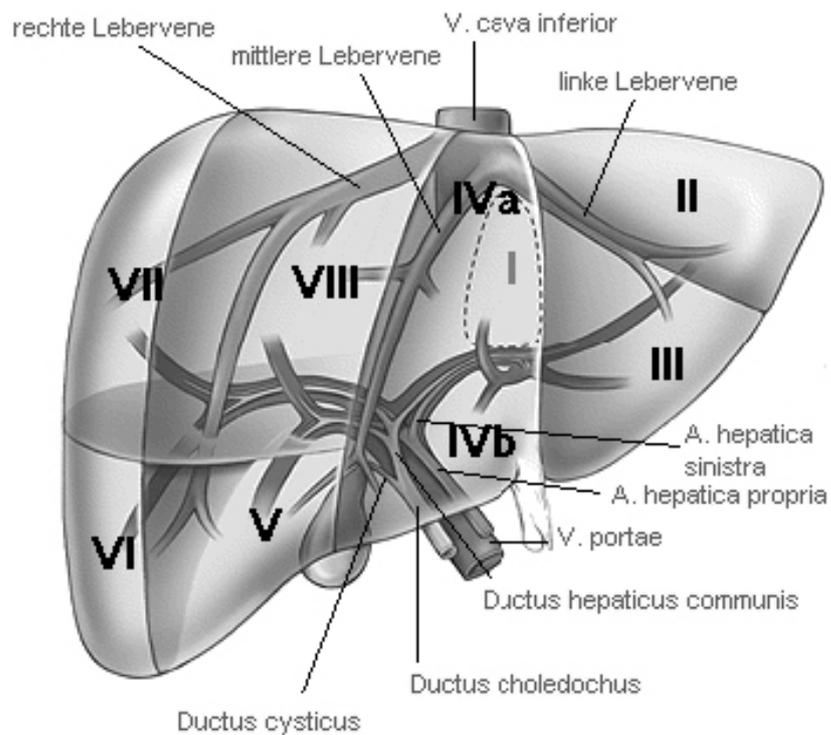


Abb. 3: Chirurgische Segmenteinteilung nach Couinaud [KLEMPNAUER 1997]

Der rechte Leberlappen setzt sich zusammen aus Segment V-VIII, der linke aus Segment I-IV. Durch die Aufzweigung der Pfortader wird die Leber horizontal zudem in eine obere (kranialen) und eine untere (kaudalen) Segmentgruppe eingeteilt. Jedes Lebersegment stellt eine eigenständige funktionelle Einheit dar, mit segmentalem portalvenösem und arteriellem Zufluss sowie venösem und biliärem Abfluss [BRUCH 2000].

1.3 Indikationen zur Leberresektion

Verschiedene primäre und sekundäre hepatische Tumore sowie Tumore der Gallenwege machen eine chirurgische Intervention als therapeutische Option notwendig.

Die Indikation zu Leberresektion ergibt der Nachweis eines malignen oder symptomatischen benignen Tumors. Liegen Sekundärmetastasen, Metastasen beschränkter Anzahl, seitenbegrenzte Metastasen oder primäre Leberkarzinome vor, welche nur in einer Leberhälfte lokalisiert sind und liegt eine suffiziente Funktion des Restleberparenchyms vor, besteht eine absolute Operationsindikation [KREMER 1993]. Die präoperative Diagnostik mittels bildgebender Verfahren wie MRT, CT, Sonographie, PET oder ERCP dient der Beurteilung der onkologischen und technischen Resektabilität. Darüber hinaus sollte zur Vermeidung postoperativer Komplikationen präoperativ eine aktuelle Leberfunktionsanalyse erfolgen [LO 1997].

Es sind Leberresektionen bis zu einem resezierten Lebervolumen von 75 % möglich [VAUTHEY 1998].

1.4 Leberresektionsverfahren

Bei der Leberresektion ist es obligat tumorfreie Resektionsränder zu erreichen ohne dabei gesundes Leberparenchym zu verlieren. Heutzutage stehen diverse Resektionsverfahren zur Verfügung. Grundsätzlich wird zwischen einem anatomischen und nicht anatomischen atypischen Resektionsverfahren unterschieden.

Das anatomische Resektionsverfahren orientiert sich nach dem funktionellen Aufbau der Leberlappen und Segmente und hält dabei die Resektionsgrenzen ein. Vorteilhaft hierbei ist, dass die residuale Restleber weiterhin über eine arterielle und portalvenöse Blutversorgung sowie über eine ausreichende lebervenöse Drainage verfügt.

Da intrahepatische Gallenwege ebenfalls dem segmentalen Aufbau der Leber folgen, liegt nach einer anatomischen Leberresektion in der Regel weiterhin eine suffiziente Drainage der Gallengänge vor.

Trotz der Vorteile des anatomischen Resektionsverfahrens gibt es auch rationale Indikationen für das nicht anatomische atypische Resektionsverfahren, wenn beispielsweise hierbei das Resektionsausmaß und somit die Traumatisierung des Restlebergewebes eingeschränkt werden kann [BISMUTH 1982].

Nomenklatur der Leberresektionen entsprechend der segmentorientierten Anatomie nach Couinaud [COUINAUD 1954]

Bei den anatomischen Resektionen können unterschieden werden:

- segmentorientierte Resektion (Monosegment-, Polysegment- oder Multisegmentresektionen)
- Linkslaterale Leberresektion (Segment II-III)
- Hemihepatektomie links (Segment II-IV ±I)
- Hemihepatektomie rechts (Segment V-VIII)
- Trisegmentektomie links: Hemihepatektomie links + Segment V und VIII
- Trisegmentektomie rechts: Hemihepatektomie rechts + Segment I und IV

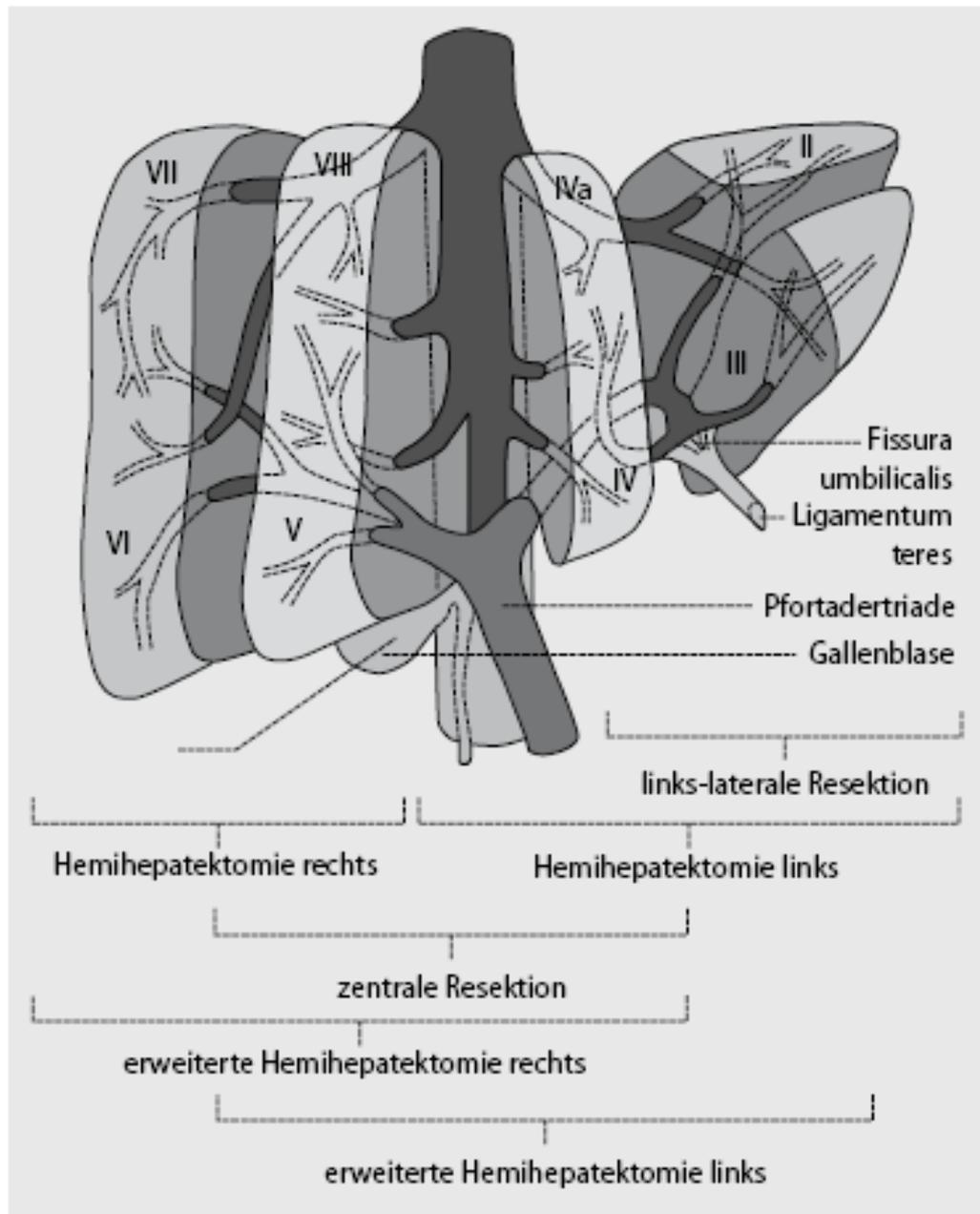


Abb. 4: Nomenklatur der Leberresektion [NAGEL 2005]

1.5 Knochenmark-Stammzellen und Leberregeneration

In vorangegangenen experimentellen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass bei einer Leberresektion extrahepatische Stammzellen wie hämatopoetische Progenitor- Zellen an der Leberregeneration beteiligt sind [FUJII 2002].

Des Weiteren wird beschrieben, dass KMSZ in der Lage sind, sich sowohl in Hepatozyten als auch in Cholangiozyten zu differenzieren [LAGASSE 2000, CROSBY 2001, KORBLING 2002, SCHWARTZ 2002, NEWSOME 2003].

Wie die Umwandlung in Hepatozyten geschieht wird derzeit in verschiedenen Arbeitsgruppen diskutiert. Ein Ansatz wäre, dass die Umwandlung von extrahepatischen hämatopoetische Stammzellen in Hepatozyten, welche die Leberregeneration unterstützen, auch ohne Fusion mit Leberzellen geschehen könnte [NEWSOME 2003, JANG 2004]. Andere Daten legen nahe, dass hämatopoetische Stammzellen sich erst durch Kontakt mit Hepatozyten in solche umwandeln [WANG, WILLENBRING et al. 2003, VASSILOPOULOS 2003].

Neben Hepatozyten, sinusoidalen Zellen und Cholangiozyten beinhaltet die Leber kleine parenchymale Zellen mit großen ovalen Kernen. Diese „Oval“-Zellen [GRISHAM et HARTROFT 1961] liegen im Bereich der Hering-Kanäle [GRISHAM et THORGEIRSSON 1997] und ihnen wird nachgesagt, dass sie als intrahepatische Stammzellen [DE VOS 1992, KOUKOULIS 1992, VIG 2006] wirken und sich sowohl in Hepatozyten [GOLDING 1995] als auch in Cholangiozyten [YIN 1999] differenzieren können.

Somit könnten sie bei Leberschädigung mit hohem Parenchymverlust eine bedeutsame Rolle in reparativen Prozessen spielen [ALISON 1997]. Hypothesen, wonach KMSZ als Ursprung für intrahepatische „Oval“-Zellen gelten [PETERSEN 2003], wurden von anderen Arbeitsgruppen in Frage gestellt [WANG, FOSTER et al. 2003, MENTHENA 2004].

Bei einem Leberparenchymschaden werden bekannterweise stammzellspezifische Wachstumsfaktoren und mögliche Chemokine in erhöhter Konzentration ausgeschüttet. Im Einzelnen handelt es sich um 'stromal cell-derived factor-1' (SDF-1), 'stem cell factor'(SCF), 'hepatocyte growth factor' (HGF) und Interleukin-8 (IL8).

Diesen und noch anderen Faktoren wird eine große Rolle bei der aktiven Stammzellanlagerung aus extrahepatischen Quellen zur Leber hin ('lokales homing') zugesprochen [HATCH 2002, KOLLET 2003, DALAKAS 2005]. Das Anwachsen von Lebergewebe aus extrahepatischen Vorläuferzellen wird bei Fällen einer Leberschädigung, im Vergleich zu unbeschädigtem Lebergewebe, beschleunigt [WANG, GE et al. 2003].

Der 'hepatocyte growth factor' (HGF), ursprünglich identifiziert als ein potentes Mitogen für ausgereifte Hepatozyten, wird von mesenchymalen Stammzellen sezerniert und vermittelt seine vielfältigen Effekte primär als ein parakriner Stimulus auf epitheliale Zellen, wo das Zellwachstum, die Zellmotilität und die Morphogenese reguliert wird.

HGF ist ein natürlicher Ligand für den transmembranen Tyrosinkinase-Zelloberflächenrezeptor, welcher auch als MET bekannt ist. MET ist das Produkt des c-MET Protoonkogens [NAKAMURA et NAWA 1984, GOHDA 1988, NAKAMURA et NISHIZAWA 1989, UEHARA 1992, MONTESANO 1991, RUBIN 1991, BOTTARO 1991].

In der Leber spielt das HGF eine wichtige Rolle bei der Leberregeneration [STOKER 1989, GHERARDI et STOKER 1990, SELDEN 1990, MICHALOPOULOS et ZARNEGAR 1992]. Dort wird es von den hepatischen Sternzellen exprimiert [SCHIRMACHER 1992, RAMADORI 1992]. Diese spezialisierten Zellen befinden sich im Disse-Raum, welcher zwischen den Leberepithelzellen und dem sinusoidalen Endothel ausgebildet ist [WAKE 1971].

Bei akuten Leberschäden weisen erhöhte HGF-Plasmaspiegel mit nachfolgender DNA-Synthese in den Hepatozyten und anschließender Proliferation auf eine ausschlaggebende Beteiligung des 'hepatocyte growth factors' hin [SCHIRMACHER

1992]. Lindroos et al. zeigt in einem Versuch bei teilhepatektomierter Ratten, dass durch den experimentell induzierten Proliferationsreiz bereits früh im Blut ein erhöhter HGF-Level zu beobachten ist – noch bevor letztlich die DNA-Synthese und die eigentliche Leberregeneration gestartet wird. Ähnlich schneller Anstieg des HGF-Level ist auch bei Hepatotoxinen, wie Carbon Tetrachlorid zu verzeichnen [LINDROOS 1991].

In einer anderen Studie konnte ein erhöhter Serumspiegel des hepatocyte growth factor nach partieller Leberteilektomie rechts bei gesunden Lebendspendern beobachtet werden [EFIMOVA 2005].

Der 'hepatocyte growth factor' (HGF) zeigt auch gemeinsame Effekte mit und Induktion von SCF und SDF-1 bezüglich des Stammzellrecruitment während der Leberregeneration [KOLLET 2003, MATSUDA-HASHII 2004].

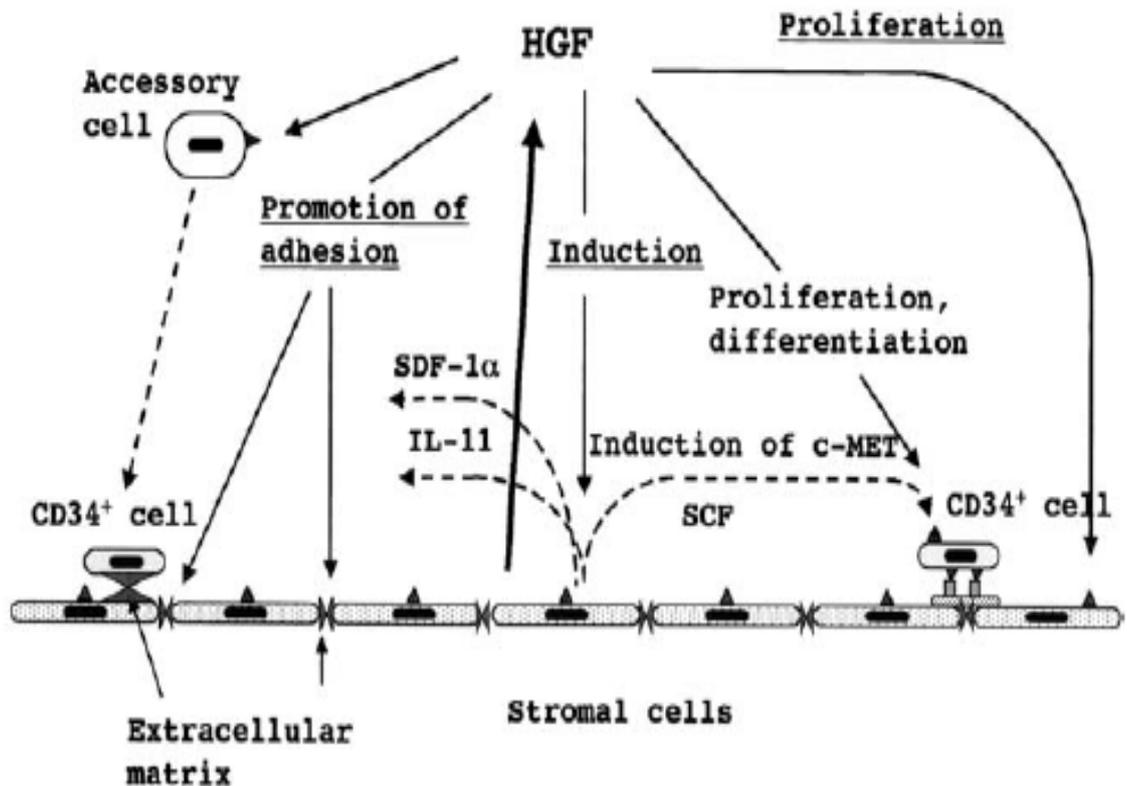


Abb. 5: HGF als Schlüsselrolle in der Hämatopoese [MATSUDA-HASHII 2004]

Das Chemokin 'stromal cell-derived factor-1' (SDF-1), welches Vorläuferzellen in Mensch und Maus anlockt, wird von dem Gallengangsepithel der Leber gebildet. In Versuchen bei Mäusen wurde beobachtet, dass die Neutralisation des SDF-1 Rezeptors CXCR4 das lokale Homing und Anwachsen der Leber durch humane CD34+ Vorläuferzellen aufhebt. Eine hepatische Injektion durch humanes SDF-1 hingegen zeigte ein erhöhtes lokales Homing [KOLLET 2003].

Bei Leberschäden werden erhöhte SDF-1 Spiegel, welche CD133+ KMSZ anlocken und SDF-1 Rezeptor CXCR4 positiv sind, beobachtet. CD133+ KMSZ, welche wahrscheinlich einem SDF-1 Gradienten folgen, werden peripher im Blut angereichert und nehmen somit am Szenario der Leberregeneration teil [RATAJCZAK 2003].

Weitere Ergebnisse aus In-Vitro Studien legen nahe, dass am Prozess der verstärkten Anreicherung von mesenchymalen Stammzellen im geschädigtem Gewebe sowohl eine Beteiligung durch die SDF-1-CXCR4 und HGF-c-MET Kaskade als auch EGF, FGF, IGF und Matrix-Metalloproteinasen (MMP) vorhanden zu sein scheint. [SON 2006, Lange 2006].

Die Eigenschaft des 'stem cell factor' (SCF) als hämatopoetischer Faktor, welcher für die Proliferation und Differenzierung von verschiedenen Typen von KMSZ verantwortlich zu sein scheint, ist bereits bekannt [ZSEBO 1990, MATSUI 1990, SHIMIZU 1996, KURATA 1998]. Verschiedene Daten legen eine signifikante Beteiligung von SCF, ein nachgewiesener Ligand zum c-Kit Rezeptor (Stammzellfaktor-Rezeptor), an der Hepatozytenproliferation und somit an der Leberregeneration nahe [FUJIO 1994, RAO 1996, OMORI 1997, MORIMOTO 1998].

Die Arbeitsgruppe Ren et al. zeigte in einem Versuch bei Mäusen, dass nachdem 70% des Leberparenchyms reseziert wurde, es in der Leber zu einem Abfall des SCF-Levels wohingegen es gleichzeitig im peripheren Blut es zu einem Anstieg des SCF Spiegels kam. Eine SCF Blockade, einerseits durch SCF-Antikörper oder andererseits durch gentechnisch veränderte Mäuse, zeigte nach einer Leberteilektomie eine Hemmung der Hepatozytenproliferation. Bei gentechnisch veränderten Mäusen, die kein SCF bildeten, kam es nach SCF Substitution wieder zu einer Hepatozytenproliferation [REN 2003].

Der 'stem cell factor' scheint nicht nur leberregenerative, sondern auch leberprotektive Eigenschaften zu besitzen. Simpson et al. demonstrierte in einem Mausmodell, dass toxische induzierte Leberschäden durch SCF verringert werden könnten [SIMPSON 2003].

1.6 Zielsetzung dieser Arbeit

Bislang ist wenig über die Ausschüttung und möglichen Modulationseffekte von stammzellspezifischen Wachstumsfaktoren und Chemokinen nach einer Leberresektion, welche Auswirkungen auf die extrahepatische Stammzellmobilisation, dem lokalen hepatischen Ansiedeln und der Differenzierung bzw. Proliferation von KMSZ haben, bekannt.

Ziel dieser Studie ist es einen Einblick in die Rolle der Wachstumsfaktoren bezüglich der Leberregeneration zu erhalten, insbesondere die frühe Ausschüttung und Mobilisation unmittelbar nach einer Leberteileresektion.

So sollte der Frage nachgegangen werden, inwiefern das Ausmaß der Leberteileresektion und den damit verbundenen Parenchymverlust mit dem peripher evaluierten Spiegel der stammzellspezifischen Zytokinen SCF, SDF-1 und HGF sowie den laborchemischen Parametern korreliert.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1 Patienten und Probanden

In der vorliegenden Studie wurden sechzehn aufeinander folgende Patienten mit einem bösartigen Lebertumor untersucht. Alle Patienten waren für eine Leberteilektomie geplant, vorbereitet und über die Studie hinreichend informiert und damit einverstanden. Die Serologie der Patienten war Hepatitis C und HIV negativ. Die Patienten wurden, abhängig vom Leberschaden und den damit verbundenen unterschiedlichen Umfanges des Lebereingriffes, in drei Gruppen eingeteilt:

Gruppe I mit einer Leberresektion < 3 Lebersegmente;

Gruppe II mit einer Leberresektion 3 – 4 Lebersegmente; und

Gruppe III mit einer Leberresektion 5 – 6 Lebersegmente

2.2 Blutproben

Von den zu untersuchenden sechzehn Patienten wurden zu bestimmten Zeitpunkten Serumproben und EDTA-Proben entnommen, aufbereitet und bis zum weiteren Gebrauch bei -20°C eingefroren (siehe Kap.2.5).

2.3 Laborgeräte, Material und Reagenzien

2.3.1 Laborgeräte

Gerät	Hersteller
Sterilbank	Fa. Heraeus Instruments
Pipetten (50 µl, 100µl, 200 µl, 1ml)	Fa. Eppendorf
Zentrifuge / Universal 30 RF	Fa. Hettich
Kühlschrank -20 Grad / WA 91	Fa. Kirsch / Bosch
Mikrotiterplatten-Photometer / Sunrise	Fa. Tecan
Plattenschüttler / Thermomixer comfort	Fa. Eppendorf

2.3.2 Plastikwaren und Einwegartikel

Plastikwaren und Einwegartikel	Hersteller
Handschuhe Sensiclean II	Fa. Ansell
Perfusionsbesteck mit Flügel	Fa. Braun
Serum-Vacutainer	Fa. Becton-Dickinson
EDTA-Vacutainer	Fa. Becton-Dickinson
Pipettenspitzen 1 ml	Fa. Star Lab
2 ml Safe-Lock Reaktionsgefäße	Fa. Eppendorf
0,5 ml Safe-Lock Reaktionsgefäße	Fa. Eppendorf

2.3.3 Molekularbiologische ELISA - Kits

Bezeichnung	Hersteller
Quantikine® Human HGF Immunoassay	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Quantikine® Human SDF-1α Immunoassay	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Quantikine® Human SCF Immunoassay	Fa. R&D Systems, Minneapolis

2.3.4 Reagenzien der Molekularbiologischen ELISA - Kits

Bezeichnung	Hersteller
96-Loch-Mikrotiterplatten aus Kunststoff	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Konjugat-Detektionsantikörper	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Standard	Fa. R&D Systems, Minneapolis

Probenverdünnung RD1W	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Calibrator Verdünnung RD5P 5-fach konz.	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Wasch Puffer Konzentrat	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Farbreagenz A	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Farbreagenz B	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Stopplösung	Fa. R&D Systems, Minneapolis
Abdeckplatte	Fa. R&D Systems, Minneapolis

2.3.5 Sonstige Reagenzien

destilliertes Wasser

Delta Select GmbH

2.4 Software und Server

2.4.1 Software

Microsoft® Word 2010

Microsoft Corp., Redmond/USA

Adobe® Photoshop CS3

Adobe Systems Inc., San Jose/USA

SPSS® 11.0

SPSS Incorp., Germany

Magellan Standard 5.0

Tecan

SigmaPlot™ 11.0

Systat Software GmbH

2.4.2 Server

PubMed

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>

2.5 Studienbeschreibung

In der vorliegenden Studie wurde bei sechzehn Patienten Wachstumsfaktoren (humanes HGF, SDF-1 α und SCF) im Blut nach einer Leberteilektomie untersucht.

Zwecks Vergleichs nach der Leberteilektomie wurde präoperativ (-24h) Blut abgenommen. Weitere Zeitpunkte der Blutentnahme waren intraoperativ, unmittelbar nach Leberteilektomie (0h), 3 Stunden (3h) später, 6 Stunden (6h) später, 12 Stunden (12h) später, 24 Stunden (24h) später und 48 Stunden (48h) später.

Das Blut wurde über einen peripheren Zugang, über einem ZVK oder über einen arteriellen Zugang entnommen und in jeweils drei Serum Vacutainer mit Silikon-Gel und EDTA (Plasma)- Vacutainer gefüllt.

Im Labor wurden die Proben weiter aufbereitet. Die Serumproben und EDTA-Proben wurden zentrifugiert. Der Überstand wurde unter der Sterilbank in 2 ml Reaktionsgefäße dekantiert und anschließend bis zum weiteren Gebrauch bei -20°C eingefroren. Um unter anderem Verunreinigungen, häufiges Auftauen, Einfrieren zu verhindern, wurden die Blutproben zwischenzeitlich in 0,5 ml Reaktionsgefäße aliquotiert.

Nach Sammeln der Blutproben wurden ELISA-Untersuchungen durchgeführt. Im Anschluss an die Untersuchung fand eine statistische Auswertung statt.

2.6 Methoden

2.6.1 Aufbereitung der Blutproben

Die Serumproben wurden zunächst bis zum Gerinnen bei RT für 30 min gelagert und anschließend für 10 min bei 1000 x g (4 °C) zentrifugiert. Die EDTA-Proben wurden sofort nach Blutentnahme für 10 min bei 1000 x g (4 °C) zentrifugiert.

Der Serumproben und EDTA-Proben - Überstand wurde mittels einer Pipette abgenommen und in ein 2 ml Reaktionsgefäß überführt und anschließend bis zum weiteren Gebrauch bei -20°C eingefroren. Das Pellet aus Erythrozyten wurde verworfen.

Um unter anderem Verunreinigungen, häufiges Auftauen, Einfrieren zu verhindern, wurden die Blutproben zwischenzeitlich in 0,5 ml Reaktionsgefäße aliquotiert.

2.6.2 Bestimmung von humanem HGF, SDF-1 α und SCF mittels ELISA

Allgemein

Die Durchführung eines ELISA wurde erstmals durch Engvall und Perlmann zur quantitative Bestimmung von Antigenen (1971) bzw. von Antikörpern (1972) beschrieben. Dabei handelt es sich um einen Enzymimmunoassay (EIA), mit dessen Hilfe geringste Mengen an Antigen oder Antikörper nachgewiesen werden können. Dabei kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen Antigen und Antikörper, die durch eine Enzym-katalysierte Chromogenumwandlung sichtbar gemacht wird. Das lösliche und farblose Chromogen wird dabei zu einem löslichen und gefärbten Farbstoff umgesetzt, der sich durch Messung mit dem Photometer quantifizieren lässt.

Prinzip

Bei dem ELISA handelt es sich um einen solid-phase enzyme linked immunosorbent assay. Bei der Solid-Phase-Technik (Festplattenadsorption) wird der Antikörper (AK), in dieser Arbeit ein monoklonaler Antikörper, spezifisch gegen humanes HGF, SDF-1 α und SCF direkt an der Plastikoberfläche der Mikrotiterplatte adsorbiert (1). Die hier verwendeten ELISA-Kits (Fa. R&D Systems, Minneapolis) sind bereits mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet.

Um einen möglichst hohen Durchsatz von Proben zu erzielen, wurden in dieser Arbeit, so genannte 96-well- ELISA- Mikrotiterplatten aus Kunststoff verwendet.

Auf die mit AK beschichtete Platte (2) werden die Standards und Proben in die unterschiedlichen Kavitäten (Vertiefungen) pipettiert (3) und inkubiert (4). Um die Menge an humanem HGF, SDF-1 α und SCF zu quantifizieren wird nach der Immunreaktion des 1. Antikörpers ein horseradish peroxidase (HRP)-konjugierter Detektionsantikörper zugesetzt (5), der an die noch freien Epitope des humanen HGFs, SDF-1 α s und SCFs bindet (6). Der Anteil an nicht gebundenem Konjugat wird dann durch einen Waschschrift entfernt. Nach Zugabe des Substrats (7) lässt sich aus der gemessenen Farbintensität (8) durch Vergleich mit der Standardkurve die Antigenkonzentration der Probe bestimmen.

Die Intensität der Farbe ist proportional zu der humanen HGF, SDF-1 α und SCF Konzentration im Blut.

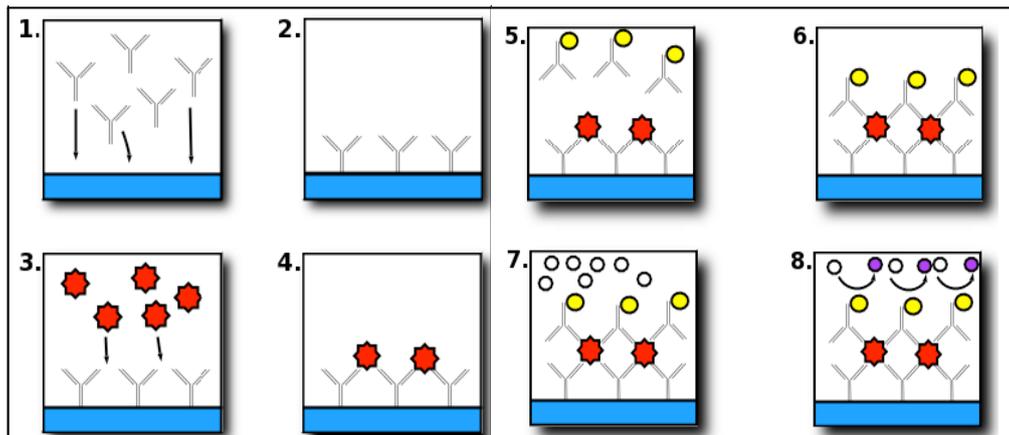


Abb. 6: ELISA – Prinzip [FRANK 2006]

Durchführung

1. Auftauen auf RT und Vorbereitung der Patientenproben
2. Auftragen von 150 µl Probenverdünnung RD1W in jede Kavität
3. 50 µl Standard und 50 µl der Patientenproben in die jeweilige Kavität pipettieren
4. Mikrotiterplatte 120min. bei RT inkubieren
5. Anschließend die Flüssigkeit entfernen
6. Waschen: 4mal mit 200µl destilliertem Wasser die Kavitäten auswaschen-
Vorgehensweise wie unter 5.
7. Nach dem letzten Waschschrift restliche Flüssigkeit durch Abdrücken auf
Zellstoff gut entfernen
8. Zugabe von 200 µl Konjugat-Detektionsantikörper in jede Kavität und für 120
min. inkubieren
(gegebenenfalls auf Plattenschüttler bei humanem SDF-1α-ELISA)
9. Anschließend die Flüssigkeit entfernen
10. Waschen: 4mal mit 200µl destilliertem Wasser die Kavitäten auswaschen-
Vorgehensweise wie unter 9.
11. Zugabe von 200 µl der Substratlösung (Farbreagenz A und B unmittelbar vorher
zusammengemischt)
12. Mikrotiterplatte 30 min. bei RT lichtgeschützt inkubieren
13. Zugabe von 50 µl Stopplösung in jede Kavität
14. Messen der optischen Dichte (OD) bei 450 nm innerhalb von 30 Minuten am
Plattenphotometer
15. Statistische Auswertung der Rohdaten mittels Magellan Standard 5.0

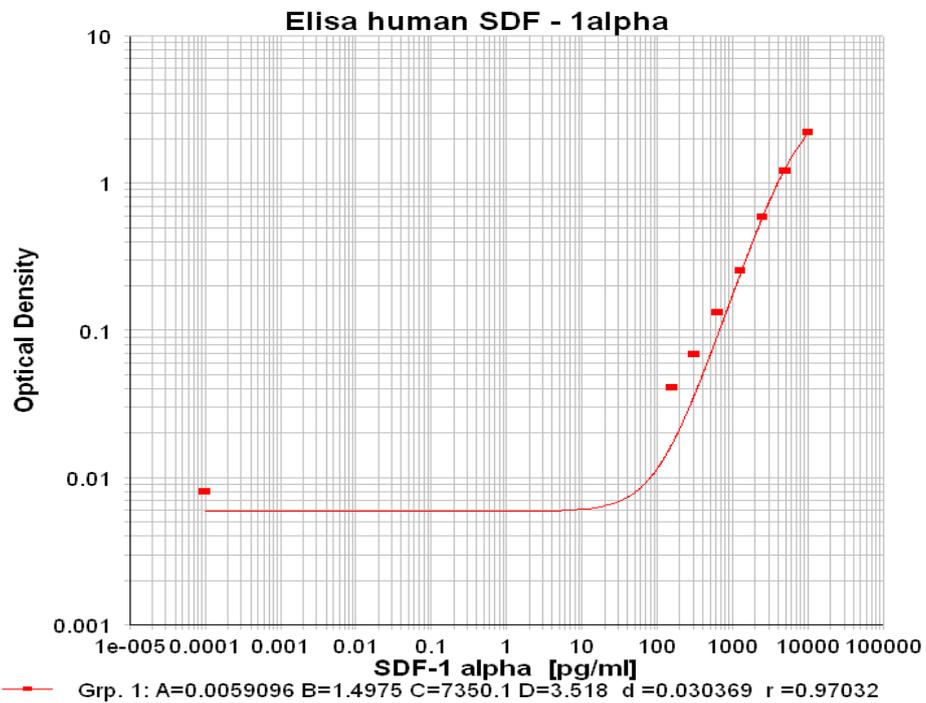
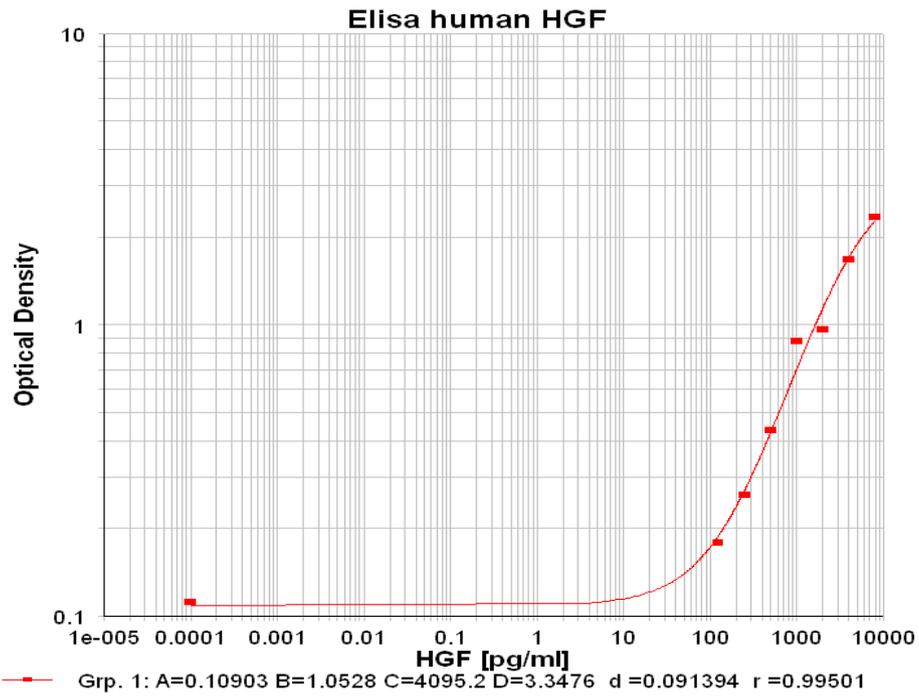


Abb. 7: ELISA – Standardkurven (humanes HGF und SDF-1 α)

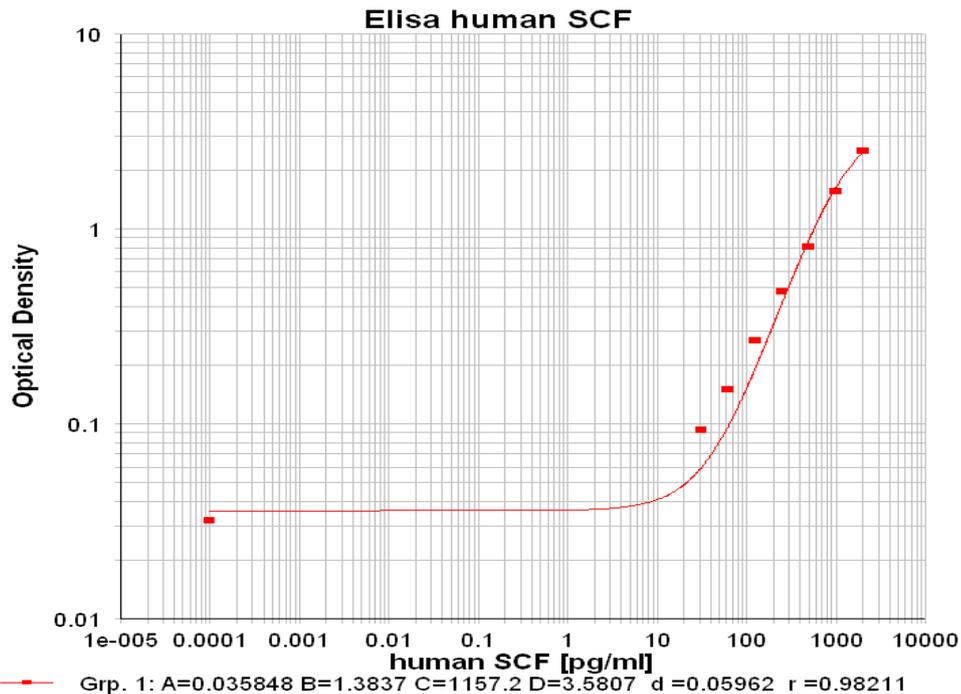


Abb. 8: ELISA – Standardkurve (humanes SCF)

2.7 Statistische Auswertungen

Die deskriptive Datenanalyse und grafische Darstellung der Messergebnisse wurde mit den Statistikprogrammen SPSS® 11.0 und SigmaPlot™ 11.0 ausgewertet. Um die Konzentration der Wachstumsfaktoren (humanes HGF, SDF-1 α und SCF) im peripheren Blut mit dem unterschiedlichen Umfang der Leberteilresektion vergleichen zu können, wurde die Datenanalyse mittels gepaarten Student-t-Test auf statistisch signifikante Unterschiede überprüft.

Ein p -Wert < 0.05 wurde dabei als statistisch signifikant angesehen.

3. Ergebnisse

3.1 Studienpatienten

In der vorliegenden Studie (Ethikvotum Aktenzeichen: Nr. 2316 und Nr. 2853) wurden die Daten von insgesamt 16 Patienten gesammelt, die aufgrund verschiedener Diagnosen eine Leberteilresektion am Universitätsklinikum Düsseldorf erhielten.

Das Durchschnittsalter der 11 männlichen und 5 weiblichen Patienten betrug 66.8 ± 8.6 Jahre. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen zu erkennen (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Patienten, Größe der Gruppe und relevante Merkmale

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Leberschaden	< 3 Segmente	3-4 Segmente	5-6 Segmente
Anzahl der Patienten	4	5	7
Geschlecht (w/m)	0/4	3/2	2/5
Alter (Jahre)	64.8 ± 7.8	64.2 ± 11.1	69.9 ± 7.3
Operationsdauer (min)	216.5 ± 146.5	363.3 ± 188.2	385.6 ± 120.7
Krankenhausaufenthalt (Tage)	10 ± 3.5	26.8 ± 14.2	22.7 ± 14.0

Unterschiedliche Diagnosen bei den Patienten waren Anlass für die Leberteilresektion:

- Hepatozelluläres Karzinom (HCC) (n = 4)
- hepatische Metastasen auf dem Boden eines kolorektalen Karzinoms (n = 4)
- Gastrointestinale Stromatumore (GIST) (n = 3)
- Karzinom an der Grenzzone zwischen Speiseröhre und Magen (n = 2)
- Neuroendokrine Karzinome (n = 1)
- Primäres Cholangiozelluläres Karzinom (CCC) (n = 2)

Die durchschnittliche Operationsdauer betrug 334.5 ± 154.8 Minuten, welche sich zwischen 55 und 605 Minuten erstreckte. Alle Patienten verblieben durchschnittlich 20.4 ± 13.2 Tage im Krankenhaus.

Gruppe I hatte im Ganzen eine kürzere Operationsdauer und einen kürzeren Krankenhausaufenthalt.

3.2 Laborchemische Untersuchungen

In dieser Studie wurden bei allen Patienten prä- und postoperativ laborchemische Untersuchungen durchgeführt. Ziel war es Lebersyntheseleistung, Entzündungsparameter und allgemeine Verlaufparameter mit dem unterschiedlichen Resektionsausmaß im Verlauf zu vergleichen. Die Blutabnahmen erfolgten bei der stationären Aufnahme, unmittelbar nach Leberteileresektion sowie vom ersten bis zum fünften postoperativen Tag.

3.2.1 GOT (Glutamat-Oxalacetat-Transaminase) - Marker des Leberschadens

GOT

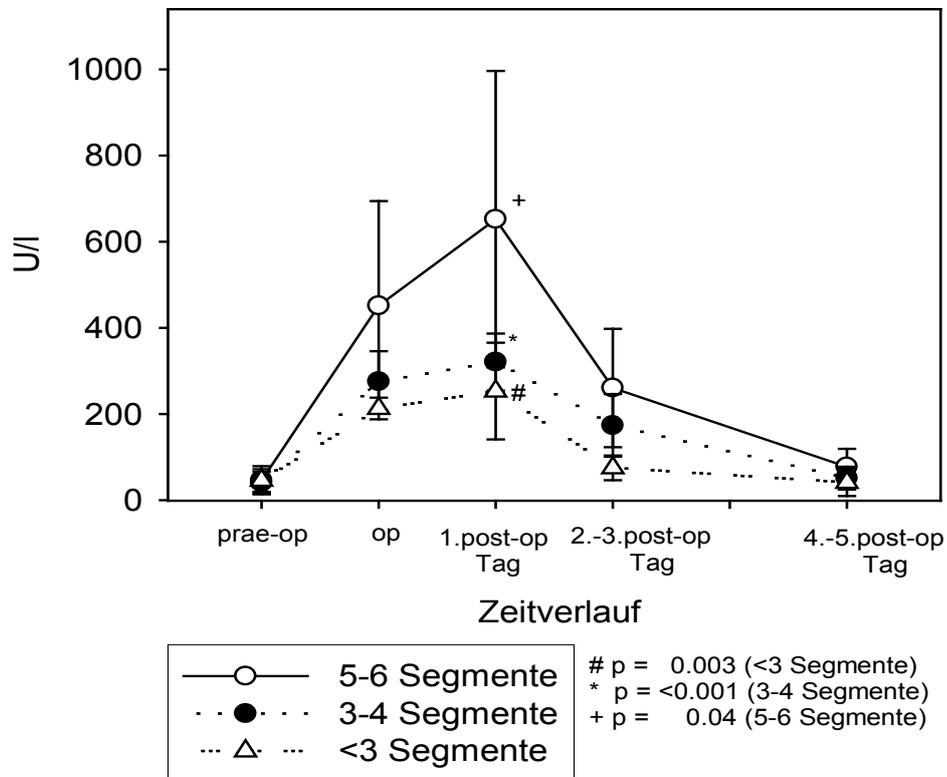


Abb. 9: GOT (Referenzbereich <35 U/l)

Präoperativ haben alle drei Gruppen einen durchschnittlich leicht erhöhten GOT-Wert (prae-op GOT 44.0 U/l). Gruppe I (<3 Segmente) zeigt schon während der Operation einen Anstieg des GOT-Wertes auf 213.0 ± 25.2 U/l, welcher postoperativ statistisch signifikant noch weiter auf 253 ± 112.2 U/l ansteigt (1.post-op Tag, $p=0.003$, gepaarten Student-t-Test). Im weiteren postoperativen Verlauf kommt es jedoch zum Abstieg des GOT-Wertes (2.-3.post-op Tag 75.1 ± 28.8 U/l und 4.-5.post-op Tag 41.5 ± 31.8 U/l). Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt auch schon während der Operation einen deutlichen Anstieg auf 275.5 ± 70.4 U/l. Statistisch signifikanter Höhepunkt am 1.post-op Tag 320.8 ± 66.1 U/l ($p= <0.001$, gepaarten Student-t-Test). Danach kommt es auch hier zu Abfall des GOT-Wertes auf nahezu präoperativen Ausgangszustand. Gruppe III (5-6 Segmente) zeigt von allen Gruppen den insgesamt höchsten Anstieg. Intraoperativ auf 451.7 ± 242.6 U/l, statistisch signifikanter Höhepunkt am 1.post-op Tag 652.3 ± 344.1 U/l ($p= 0.04$, gepaarten Student-t-Test) und dann auch hier konsequenter Abfall auf nahezu Ausgangsniveau 4.-5.post-op Tag 77.5 ± 41.9 U/l.

3.2.2 GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase) - Marker des Leberschadens

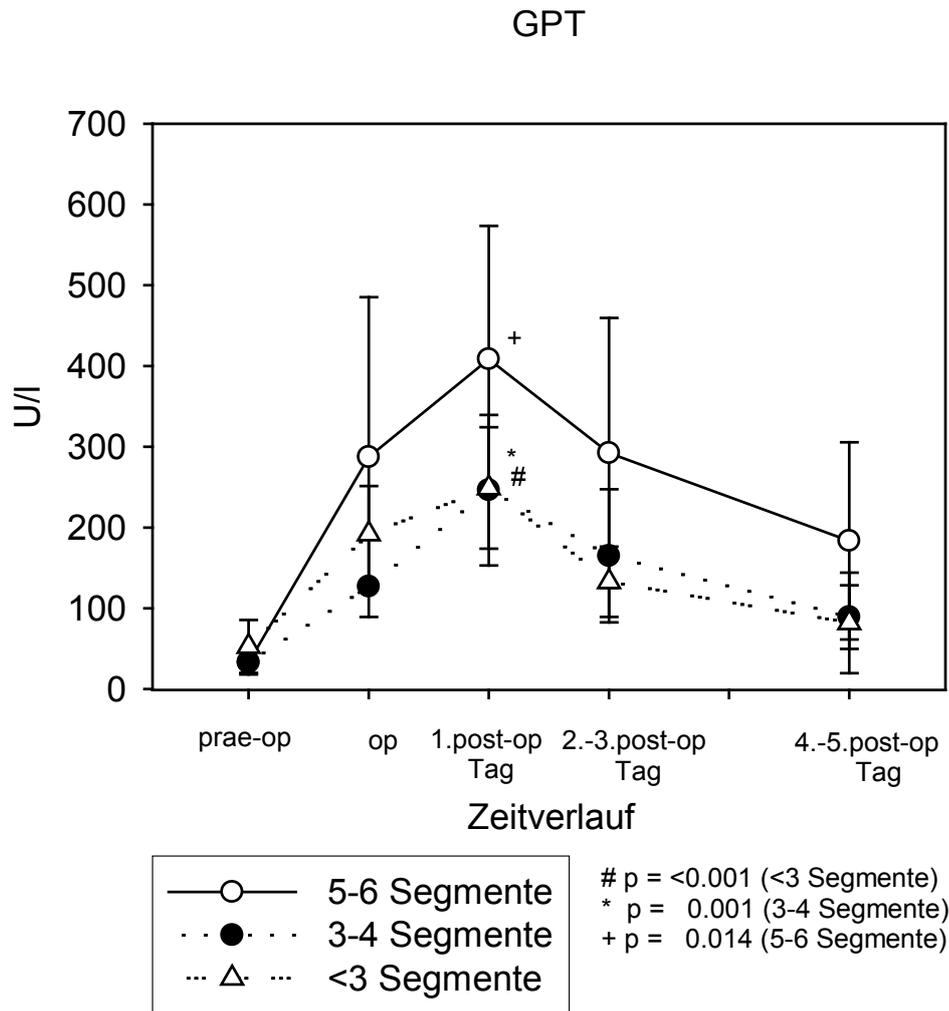


Abb. 10: GPT (Referenzbereich <34 U/l)

Alle drei Gruppen zeigen hier durchschnittlich einen nahezu ähnlichen präoperativen GPT Wert im Normbereich. Gruppe I (<3 Segmente) und Gruppe II (5-6 Segmente) zeigen beide im Verlauf einen analogen Anstieg des GPT Wertes sowie einen ähnlich hohen statistisch signifikanten Höhepunkt am 1.post-op Tag (247.5 U/l) (Gruppe I p= <0.001 und Gruppe II p=0.001, gepaarten Student-t-Test), der dann im weiteren Verlauf gleichermaßen wieder auf einen leicht erhöhten GPT Wert am 4.-5.post-op Tag (85.6 U/l) absinkt. Gruppe III (5-6 Segmente) zeigt schon intraoperativ einen deutlich höheren Anstieg des GPT Wertes. Statistisch signifikanter Höhepunkt hier am 1.post-op Tag (408.4 ± 165.1 U/l) (p= 0.014, gepaarten Student-t-Test), dann konstant leichter Abfall des GPT Wertes am 2.-3.post-op Tag (292.4 ± 167.1 U/l) und am 4.-5.post-op Tag (183.5 ± 122.1 U/l).

3.2.3 gamma-GT (Gamma-Glutamyl-Transferase) - Marker des Leberschadens

gamma - GT

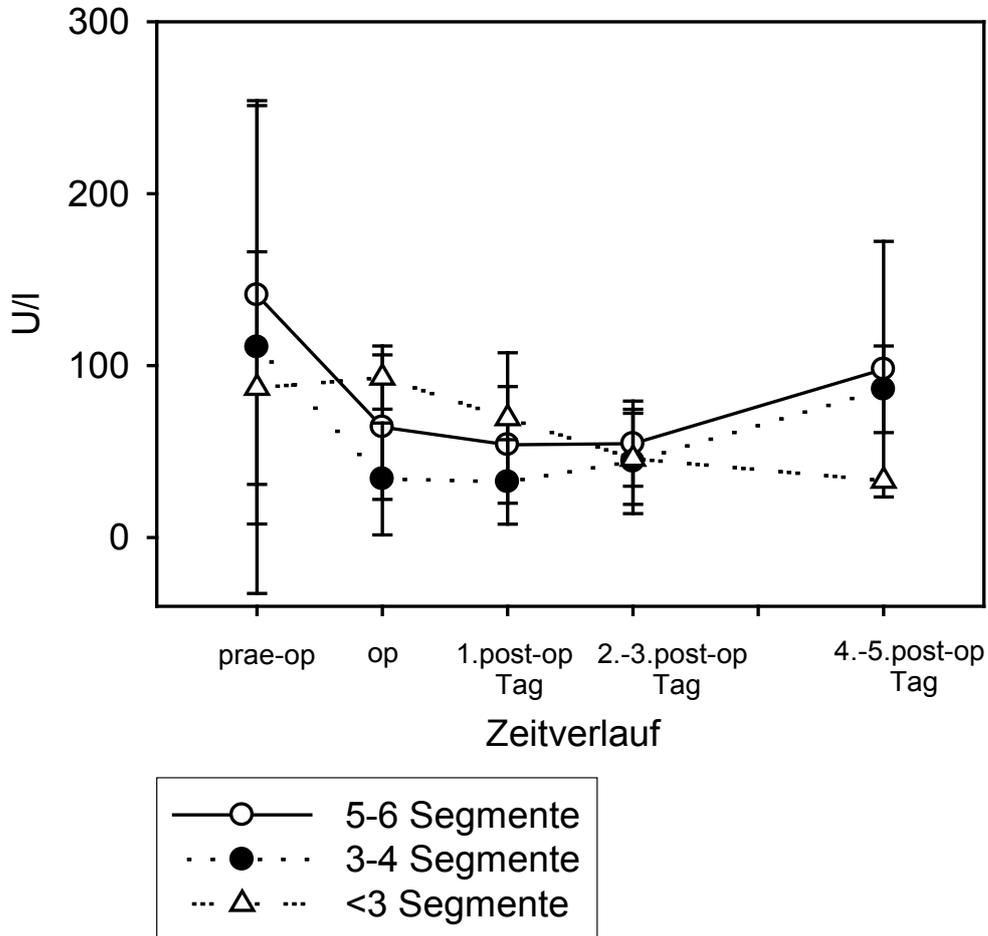


Abb. 11: gamma-GT (Referenzbereich <38 U/l)

Alle drei Gruppen haben präoperativ einen erhöhten gamma-GT Wert. Gruppe I (<3 Segmente) hat durchschnittlich einen erhöhten gamma-GT in Höhe von 87.0 ± 79.2 U/l, Gruppe II (3-4 Segmente) einen Wert von 110.8 ± 143.4 U/l und Gruppe III (5-6 Segmente) einen Wert von 141 ± 110.2 U/l. Gruppe I zeigt im weiteren postoperativen Verlauf einen konstanten Abfall des gamma-GT Wertes auf 33.0 U/l (4.-5.post-op Tag). Gruppe II zeigt durchschnittlich schon intraoperativ einen deutlichen Abfall (op 34.0 ± 32.5 U/l) des gamma-GT Wertes, welcher dann letztendlich wieder im weiteren Verlauf leicht ansteigt (4.-5.post-op Tag 86.2 ± 25.2 U/l). Gruppe III zeigt mit weiter erhöhten Werten einen insgesamt ähnlich analogen Verlauf wie Gruppe II.

3.2.4 Serumbilirubin (gesamt) - Marker der Leberfunktion

Serumbilirubin (gesamt)

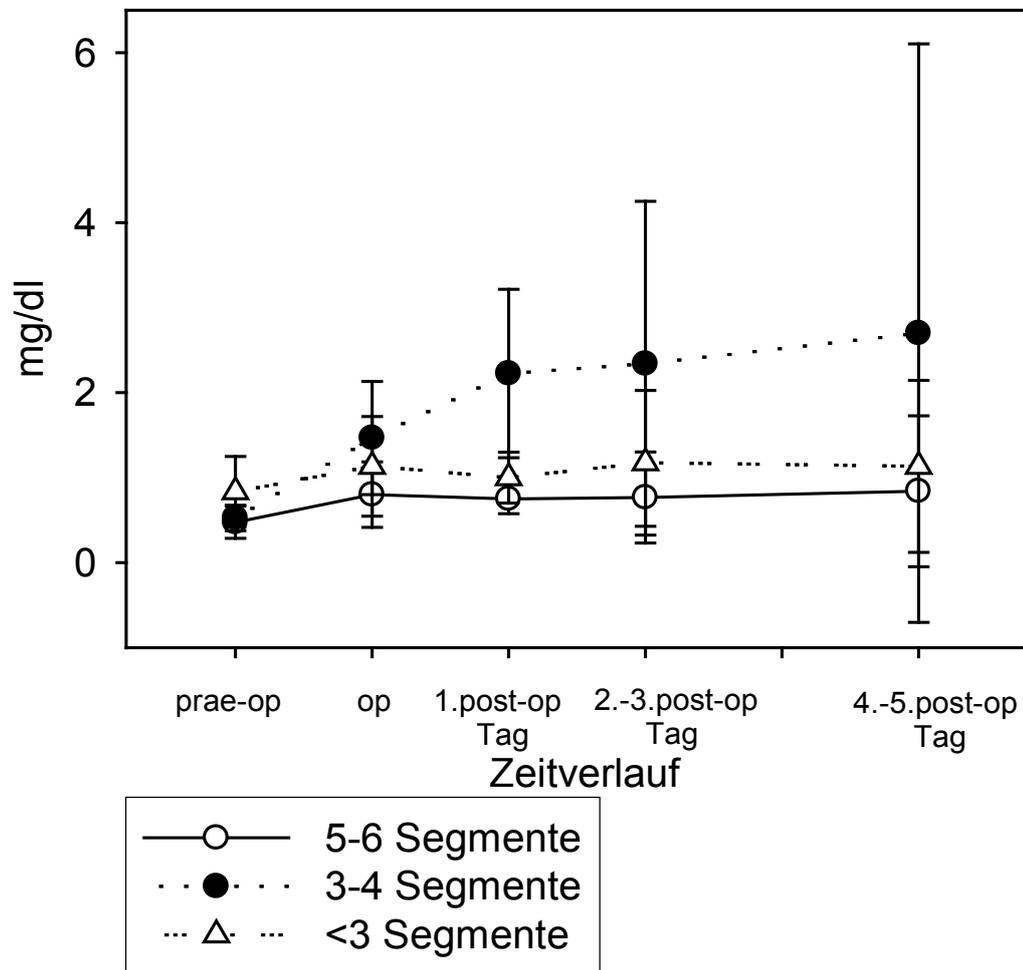


Abb. 12: Serumbilirubin (gesamt) (Referenzbereich 0.2-1.3 mg/dl)

Der durchschnittliche präoperative Serumbilirubinspiegel zeigt in Gruppe I (<3 Segmente) einen Wert von 0.8 ± 0.4 mg/dl, welcher intra- und postoperativ marginal ansteigt und seinen Höhepunkt am 2.-3.post-op Tag (1.2 ± 0.8 mg/dl) zeigt. In Gruppe II (3-4 Segmente) liegt der durchschnittliche präoperative Wert bei 0.5 ± 0.1 mg/dl. Im weiteren Verlauf zeigt sich ein deutlich linearer Anstieg bis zum 1.post-op Tag (2.2 ± 1.0 mg/dl), welcher dann auch weiter bis zum 4.-5.post-op Tag (2.7 ± 3.4 mg/dl) konstant hoch verläuft. Gruppe III (5-6 Segmente) zeigt ähnlich wie Gruppe I einen konstanten horizontalen Zeitverlauf im Referenzbereich.

3.2.5 INR (International Normalized Ratio) - Marker der Leberfunktion

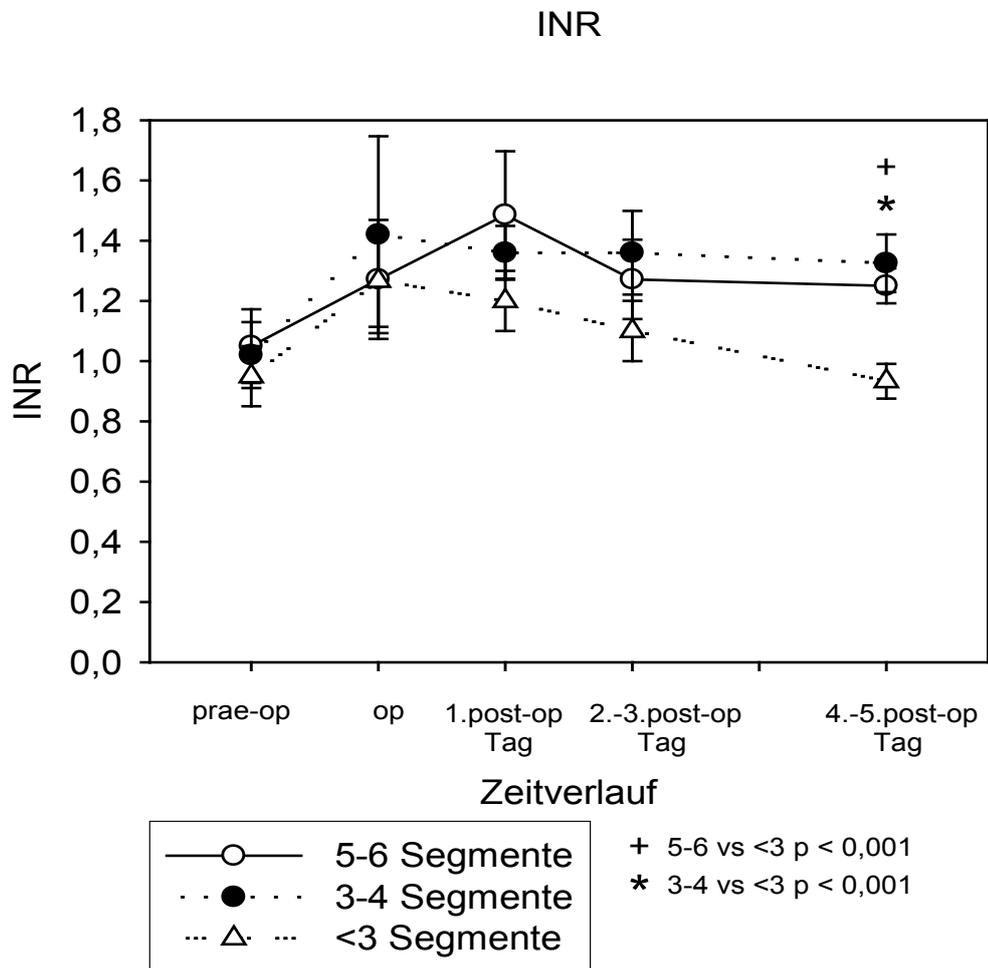


Abb. 13: INR (Referenzbereich 0.9-1.1)

Alle drei Gruppen zeigen einen durchschnittlichen präoperativen INR – Wert im Normbereich. Gruppe I (<3 Segmente) zeigt einen diskreten intraoperativen INR Anstieg auf 1.3 ± 0.2 , welche dann im weiteren Verlauf wieder auf Normalniveau absinkt (4.-5.post-op Tag INR 0.9 ± 0.1). Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt durchschnittlich einen intraoperativen INR Anstieg auf 1.4 ± 0.3 , welcher dann weiter konstant erhöht verbleibt (4.-5.post-op Tag INR 1.3 ± 0.1). Gruppe II zeigt im Vergleich zu Gruppe I eine deutlich statistische Signifikanz ($p < 0.001$). Gruppe III (5-6 Segmente) zeigt einen linearen Anstieg auf 1.5 ± 0.2 (1.post-op Tag), welcher dann wieder leicht auf 1.3 ± 0.1 (2.-3.post-op Tag) absinkt und im weiteren Verlauf leicht erhöht verbleibt (4.-5.post-op Tag). Gruppe III zeigt im Vergleich zu Gruppe I auch hier eine deutlich statistische Signifikanz ($p < 0.001$).

3.2.6 Leukozyten - Entzündungsreaktion

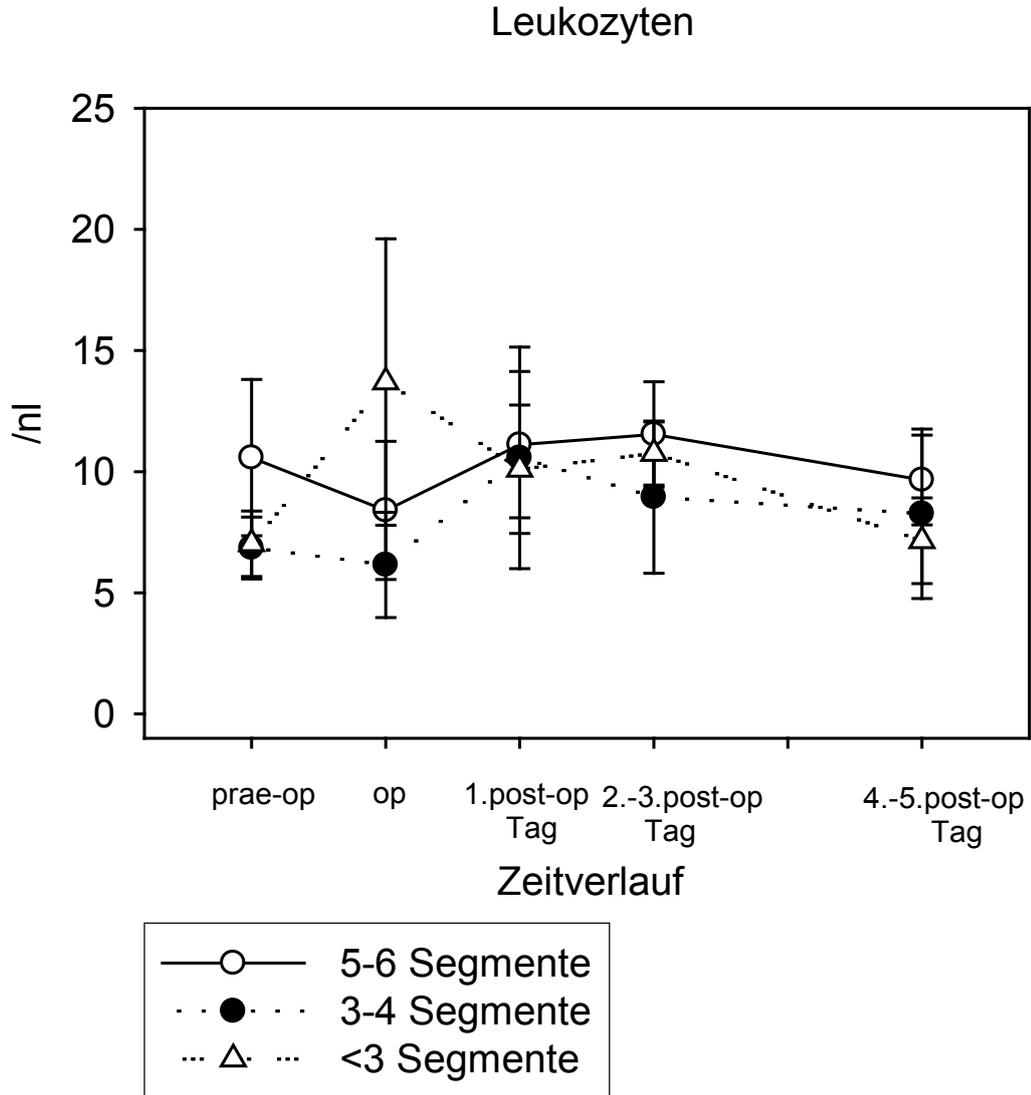


Abb. 14: Leukozyten (Referenzbereich 4.0 – 10.0 /nl)

Gruppe I (<3 Segmente) hat einen durchschnittlichen präoperativen Leukozyten-Wert in Höhe von 7.1 ± 1.4 /nl, der intraoperativ ansteigt (op 13.7 ± 5.9 /nl) und im Verlauf wieder auf Ausgangsniveau absinkt (4.-5.post-op Tag 7.2 ± 1.7 /nl). Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt einen präoperativen Normalwert, der am ersten postoperativen Tag diskret über Referenzbereich ansteigt (1.post-op Tag 10.6 ± 4.6 /nl) und dann im weiteren Verlauf wieder auf Normalniveau absinkt (4.-5.post-op Tag 8.3 ± 3.5 /nl). Gruppe III (5-6 Segmente) hat einen präoperativ leicht erhöhten Leukozyten-Wert (10.6 ± 3.2 /nl), welcher tendenziell postoperativ noch weiter leicht ansteigt (2.-3.post-op Tag 11.1 ± 3.1) und dann im weiteren Verlauf wieder auf Referenzniveau absinkt.

3.2.7 CRP (C-reaktives Protein) - Entzündungsreaktion

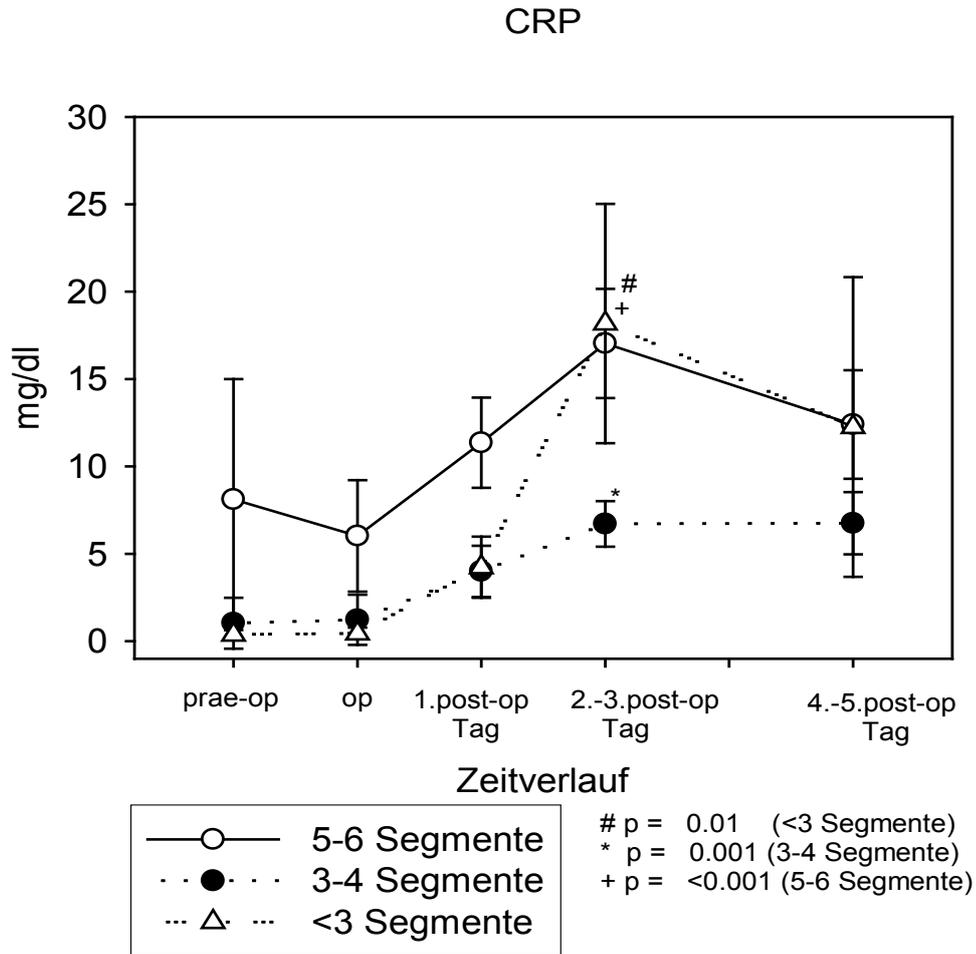


Abb. 15: CRP (Referenzbereich 0.0 - 1.0 mg/dl)

Gruppe I (<3 Segmente) zeigt präoperativ und intraoperativ im Durchschnitt ein normales CRP. Im weiteren postoperativen Verlauf kommt es hierbei zu einem statistisch signifikanten Anstieg mit Maximum am 2.-3.post-op Tag (18.2 ± 6.8 mg/dl) ($p = 0.01$, gepaarten Student-t-Test) und anschließendem tendenziellem Abfall (4.-5.post-op Tag 12.2 ± 8.6 mg/dl). Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt auch erst im postoperativen Verlauf einen unter anderem statistisch signifikanten CRP Anstieg (1.post-op Tag 4.0 ± 1.5 mg/dl; 2.-3.post-op Tag 6.7 ± 1.3 mg/dl ($p = 0.001$, gepaarten Student-t-Test) und 4.-5.post-op Tag 6.8 ± 1.8 mg/dl). Gruppe III (5-6 Segmente) hat präoperativ einen hohen CRP-Wert (8.1 ± 6.9 mg/dl). Im postoperativen Verlauf kommt es auch hier zu einem statistisch signifikanten Anstieg am 2.-3.post-op Tag (17.0 ± 3.1 mg/dl, $p < 0.001$, gepaarten Student-t-Test) sowie dann am 4.-5.post-op Tag (12.4 ± 3.1 mg/dl) zu einem leichten Abfall.

3.2.8 Hämoglobin - Blutverlust

Hämoglobin

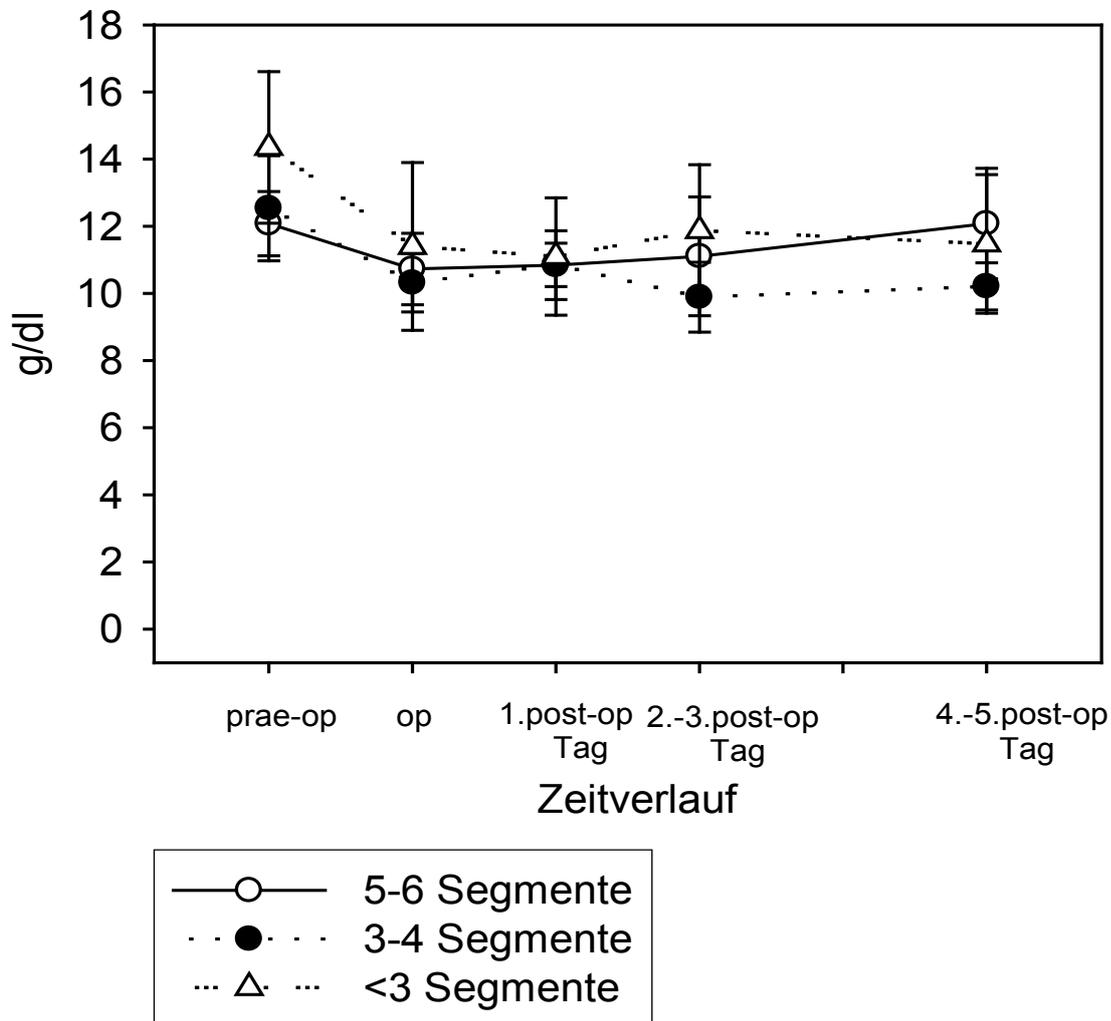


Abb. 16: Hämoglobin (Referenzbereich 11.6 – 15.6 g/dl)

Bei der Gruppe I (<3 Segmente) zeigt sich ein präoperativer Hb-Wert bei 14.3 ± 2.3 g/dl, der intraoperativ auf 11.4 ± 2.5 g/dl absinkt im weiteren Verlauf auf dem Niveau verbleibt (4.-5.post-op Tag 11.5 ± 2.1 g/dl). Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt auch im postoperativen Verlauf einen Hb-Abfall von prae-op 12.5 ± 1.6 g/dl auf 10.2 ± 0.7 g/dl (4.-5.post-op Tag). Gruppe III (5-6 Segmente) zeigt einen präoperativen Hb-Wert bei 12.1 ± 1.0 g/dl, welcher intraoperativ leicht absinkt (10.7 ± 1.1 g/dl) und im weiteren postoperativen Verlauf wieder auf Ausgangsniveau ansteigt (4.-5.post-op Tag 12.1 ± 1.6 g/dl).

3.2.9 Thrombozyten - Zelluläre Gerinnung

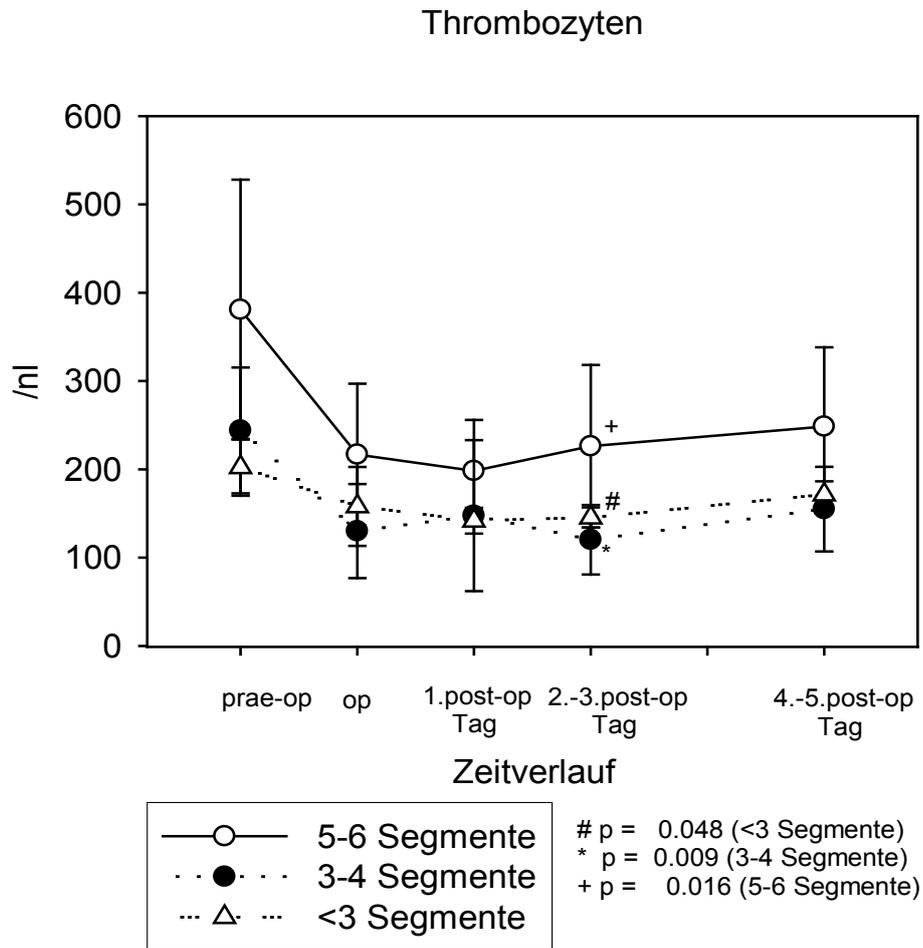


Abb. 17: Thrombozyten (Referenzbereich 150-350 /nl)

Gruppe I (<3 Segmente) hat einen präoperativen durchschnittlichen Thrombozytenwert in Höhe von 202.3 ± 32.2 /nl, welcher im postoperativen Verlauf auf 141.8 ± 14.5 /nl (1.post-op Tag) absinkt und dann wieder leicht auf 171.5 ± 14.9 /nl ansteigt (4.-5.post-op Tag). Gruppe II (3-4 Segmente) hat einen präoperativen durchschnittlichen Thrombozytenwert in Höhe von 244 ± 71.3 /nl, der im weiteren intra- und postoperativen Verlauf auch absinkt und dem Kurvenverlauf der Gruppe I sehr ähnelt. Gruppe III (5-6 Segmente) hat im Durchschnitt einen präoperativen Thrombozytenwert in Höhe von 380.8 ± 147.2 /nl. Schon wie bei den beiden anderen Gruppen stellt sich intraoperativ ein Thrombozytenabfall dar, der auch im weiteren Verlauf einen insgesamt analogen Verlauf wie bei Gruppe I und Gruppe II aufzeigt. Untersuchungen auf statistischer Signifikanz zeigten bei allen drei Gruppen am 2.-3.post-op Tag einen p-Wert < 0.05 (gepaarten Student-t-Test).

3.3 Proteinchemische Untersuchungen (ELISA)

In dieser Studie wurde bei allen Patienten prä- und postoperativ proteinchemische Untersuchungen (ELISA) durchgeführt. Ziel war es die biologischen Zusammenhänge der Leberregeneration zu eruieren und einen Einblick zwischen den peripher ausgeschütteten Zytokinen und dem Ausmaß der partiellen Leberschädigung herzustellen.

Die Blutabnahmen erfolgten bei der stationären Aufnahme präoperativ (-24h), unmittelbar nach Leberteilresektion (0h) sowie 3 Stunden (3h) später, 6 Stunden (6h) später, 12 Stunden (12h) später, 24 Stunden (24h) später und 48 Stunden (48h) später.

3.3.1 HGF (hepatocyte growth factor)

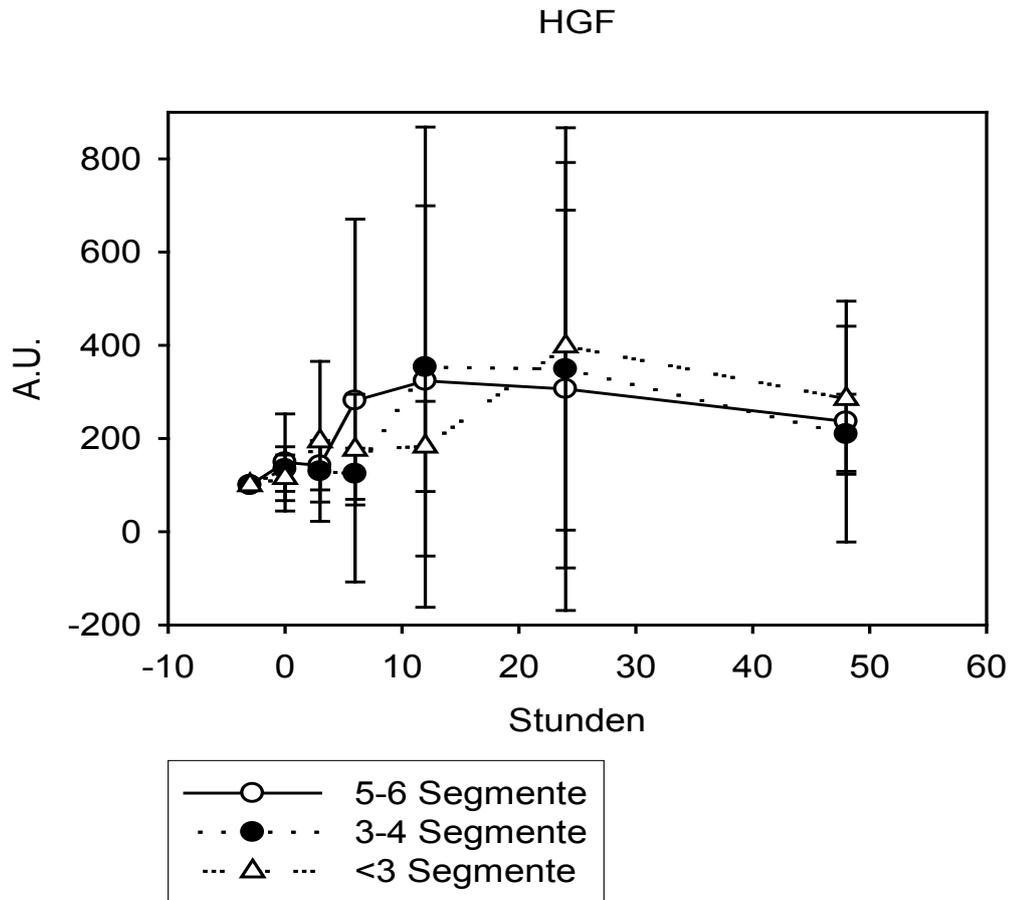


Abb. 18: HGF – Serumspiegel

Die Daten sind in arbiträrer Einheit (A.U.) in Prozent angegeben.

Der präoperative Serumspiegel wurde als 100% festgelegt.

Bei der Gruppe I (<3 Segmente) zeigt sich intra- und postoperativ ein Anstieg des HGF-Serumspiegels. Höhepunkt des Anstieges 24 Stunden postoperativ bei 397.7 ± 394.2 %. Im weiteren Verlauf kommt es hier zu einem diskreten Abfall nach 48 Stunden auf 285.2 ± 155.8 %. Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt auch einen postoperativen Anstieg nach 12 Stunden (Höhepunkt $353.0 \pm 515,1$ %). Danach auch hier ein diskreter Abfall auf 209.2 ± 85.8 % nach 48 Stunden. Gruppe III (5-6 Segmente) hat einen analogen Verlauf wie Gruppe I und II. Es kommt auch hier zu einem intra- und postoperativen Anstieg des HGF-Serumspiegels. Maximum nach 12 Stunden postoperativ (323.6 ± 375.6 %). Danach kommt es zu einem analogen Abfall wie bei den beiden anderen Gruppen. Bei allen drei Gruppen zeigt der HGF-Serumspiegel einen Höhepunkt bei nahezu 24 Stunden postoperativ – unabhängig vom Leberparenchymverlust.

3.3.2 SDF-1 (stromal cell-derived factor-1)

SDF-1

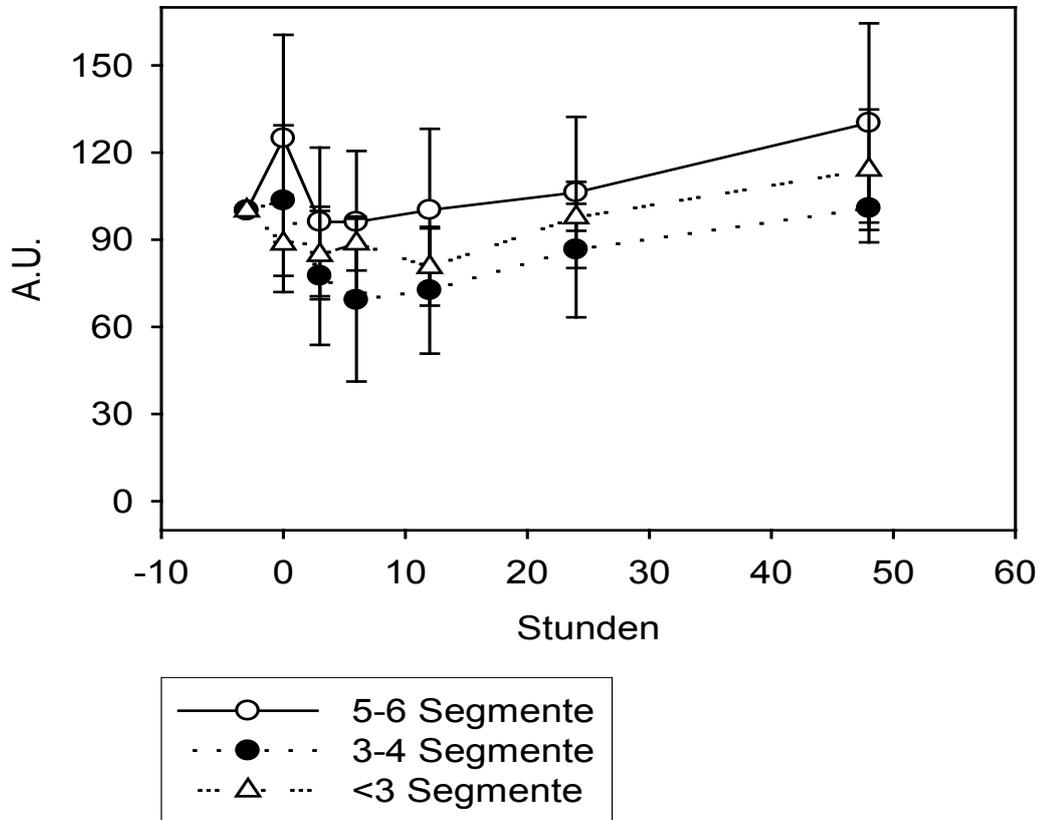


Abb. 19: SDF-1 – Serumspiegel

Die Daten sind in arbiträrer Einheit (A.U.) in Prozent angegeben.

Der präoperative Serumspiegel wurde als 100% festgelegt.

Gruppe I (<3 Segmente) zeigt initial einen postoperativen Abfall des SDF-1 Serumspiegels auf $84.7 \pm 15.2 \%$ nach 3 Stunden, welcher dann im weiteren Verlauf wieder leicht ansteigt (24 Stunden $97.7 \pm 4.7 \%$) und nach 48 Stunden ($114.1 \pm 20.7 \%$) sich auf nahezu Ausgangszustand befindet. Gruppe II (3-4 Segmente) zeigt auch einen postoperativen Abfall des Serumspiegels (Minimum bei 6 Stunden $69.2 \pm 28.0 \%$). Es kommt im weiteren Verlauf wieder zu einem Anstieg auf präoperativen Ausgangszustand (nach 48 Stunden $100,8 \pm 11.7 \%$). Gruppe III (5-6 Segmente) zeigt analog wie bei den beiden anderen Gruppen einen Serumspiegelabfall nach 6 Stunden mit anschließendem Anstieg nach 48 Stunden auf präoperatives Niveau. Bei allen drei Gruppen zeigt sich ohne einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ein Abwärtstrend nach 6 Stunden, welcher nach 48 Stunden wieder Ausgangslevel erreicht.

3.3.3 SCF (stem cell factor)

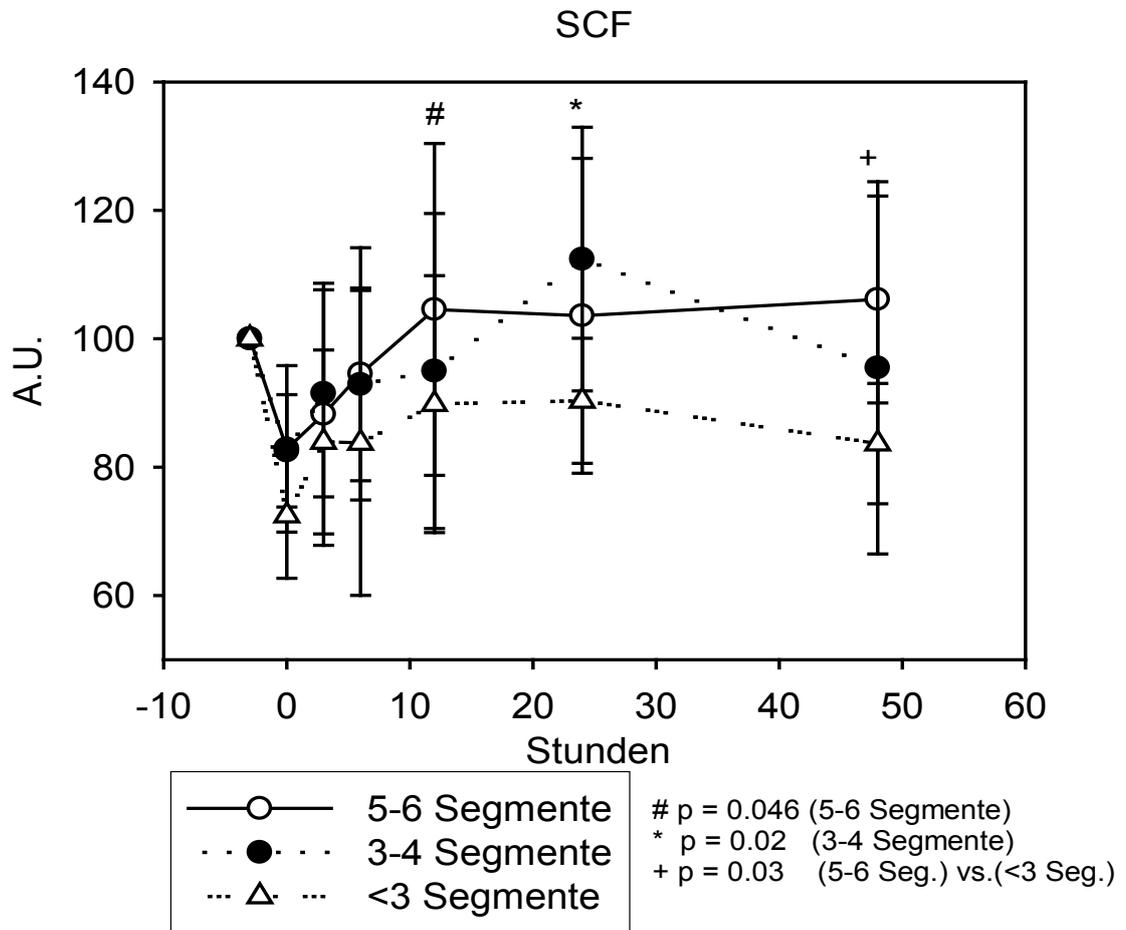


Abb. 20: SCF – Serumspiegel

Die Daten sind in arbiträrer Einheit (A.U.) in Prozent angegeben.

Der präoperative Serumspiegel wurde als 100% festgelegt.

In der Gruppe I (<3 Segmente) zeigt sich intraoperativ ein Abfall des SCF Serumspiegels auf $72.5 \pm 9.8 \%$, der im weiteren Verlauf nach 6 und 12 Stunden wieder sukzessiv ansteigt und nach 48 Stunden postoperativ eine Spiegelhöhe von $83.7 \pm 9.4 \%$ erreicht. In der Gruppe II (3-4 Segmente) erkennt man einen signifikanten SCF Serumanstieg ($p= 0.02$, gepaarten Student-t-Test) von $82.5 \pm 8.8 \%$ unmittelbar vor Leberteilresektion auf $112.4 \pm 20.5 \%$ 24 Stunden postoperativ. Im weiteren Verlauf kommt es wieder zu einem diskreten Abstieg auf $95.5 \pm 29.0 \%$ 48 Stunden postoperativ. Einen ähnlichen Verlauf beobachtet man bei der Gruppe III (5-6 Segmente). Der SCF Serumspiegel steigt signifikant von $82.8 \pm 13.0 \%$ prae Leberteilresektion auf $104.6 \pm 25.8 \%$ 12 Stunden postoperativ ($p= 0.046$, gepaarten Student-t-Test). Insgesamt beobachtet man bei allen drei Gruppen einen signifikanten

SCF Serumspiegelabfall unmittelbar nach der Leberteilresektion (0h). Des Weiteren erkennt man, dass ausschließlich bei der Gruppe I (<3 Segmente) im Gegensatz zu den anderen Gruppen, während des gesamten Beobachtungszeitraumes der SCF Serumspiegel unterhalb des präoperativen Ausgangswertes verläuft (p= 0.04, gepaarten Student-t-Test).

4. Diskussion

Die Leber, ein hoch differenziertes Organ, hat ein außerordentliches Regenerationsvermögen. Die Leberregeneration nach partieller Hepatektomie ist eines der meist untersuchten Studienmodelle im Bereich der Zell-, Organ- und Geweberegeneration [FAUSTO 2006, MICHALOPOULOS 2007].

Diese Studie beschäftigt sich mit den biologischen Zusammenhängen der Leberregeneration und versucht einen Einblick in Rolle der stammzellspezifischen Zytokine nach einer chirurgischen Leberteilesektion aufzuzeigen.

Hier wurde untersucht, inwiefern das Ausmaß der Leberteilesektion und den damit verbundenen Parenchymverlust mit dem peripher exprimierten mit Stammzellmobilisation & „homing“ in Zusammenhang gebrachten Zytokinen HGF, SDF-1 und SCF sowie der klinischen Chemie, welche den Leberschaden, die hepatische Funktion, die Entzündung & Akute-Phase-Reaktion, den Blutverlust und die zelluläre Gerinnung beschreibt, korreliert.

4.1 Patientencharakteristika

In diese Studie wurden 16 Patienten eingeschlossen, welche unterschiedliche Indikationen zur Leberteilesektion jeweils unterschiedlichen Ausmaßes aufwiesen. Die Geschlechtsverteilung war zu ca. 2/3 männlichen Geschlechts und zu 1/3 weiblichen Geschlechts. Anhand der höheren Liegedauer in der Gruppe der großen Resektionen im Vergleich lässt sich vermuten, dass Gruppe I (<3 Segmente) aufgrund des deutlich kleineren Operationsumfanges und somit auch Leberparenchymverlustes eine schnellere Rekonvaleszenz und kürzere Operationsdauer erfahren hat, wohingegen Gruppen II (3-4 Segmente) und III (5-6 Segmente) einen vergleichbaren Rekonvaleszenzbedarf und Operationsaufwand aufzeigten.

4.2 Laborchemie

Neben der Untersuchung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen wurden prä- und postoperativ Marker der Leberzellschädigung, des Lebermetabolismus sowie für die hepatische Syntheseleistung untersucht. Ferner wurde untersucht, inwiefern Entzündungsparameter und Marker des Blutverlustes mit dem Resektionsausmaß korreliert.

4.2.1 Leberschaden

Die zentrale Aufgabe der Transaminasen ist der Abbau von Aminosäuren durch Desaminierung. Bei der GOT gibt es zwei bekannte Isoenzyme. Zum einen kommt die GOT im Zytoplasma sowie in großen Mengen in den Mitochondrien vor. Es ist nicht leberspezifisch und durchaus auch in anderen Organen wie z.B. Herz, Skelettmuskel, Gehirn, Niere, Pankreas und Lunge vorhanden. Bei der GPT dagegen gibt es bei dem Menschen keine Isoenzyme. Sie kommt am meisten im Zytoplasma vor und ist leberspezifisch. Die Höhe des Enzymanstiegs des GOT- und des GPT- Werts korreliert mit dem Umfang einer Leberzellschädigung [DÖRNER 2003].

Die Leberenzyme GOT und GPT zeigten bei den eigenen Untersuchungen beide einen vergleichbaren Verlauf. Präoperativ befanden sich alle drei Gruppen im Referenzbereich. Intraoperativ kam es bei allen Gruppen zu einem Anstieg der Leberenzyme, welche am 1.post-op Tag ihren Höhepunkt erreichten und fortan im weiteren Verlauf wieder auf nahezu präoperativen Ausgangszustand abgesunken sind (vgl. Kap.3.2.1 und 3.2.2). Die Verläufe deuten im Vergleich zwischen den Gruppen auf eine mögliche Korrelation zwischen der Höhe der Transaminasenspiegel im Blut und dem Leberparenchymverlust. In verschiedenen Arbeitsgruppen wurden die metabolischen Veränderungen nach einer Leberteilesektion untersucht. Auch hier zeigte sich, dass das Enzym GPT einen sehr frühen postoperativen Anstieg aufzeigte, welche im weiteren Verlauf sukzessiv wieder auf nahezu Ausgangsniveau gesunken ist [ARONSEN 1969, CASTRO 2011].

Die gamma-GT kommt in mehreren Organen vor. Die Hauptquelle erhöhter gamma-GT-Werte im Serum ist die Leber [DÖRNER 2003].

Alle drei Gruppen zeigten einen vergleichbaren Verlauf der gamma-GT Werte im Blut.

Während der Operation sowie postoperativ kam es zu einem Abfall, welcher dann im weiteren Verlauf, jedoch unterhalb des präoperativen Ausgangsniveaus, leicht wieder anstieg. Bei den Gruppen II und III verblieb die Spiegelerrhöhung im Blut am 4.-5.post-op Tag oberhalb des Referenzbereiches (vgl. Kap.3.2.3).

In der Arbeitsgruppe Aronsen et al., wo auch metabolische Veränderungen nach einer Leberteileresektion untersucht wurden, konnte auch ein sehr ähnlicher Verlauf beobachtet werden [ARONSEN 1969]. Diese Studiendaten deuten, insbesondere im Vergleich zwischen den Gruppen untereinander, auf eine mögliche Korrelation zum Parenchymverlust hin. Lebermalignome und Absiedlungen von anderen Tumoren (Metastasen) erhöhen die gamma-GT im Serum [DÖRNER 2003]. Alle drei Gruppen zeigen präoperativ verschiedene Spiegelerrhöhungen oberhalb des Referenzbereiches. Der postoperative Abfall und Verlauf könnte dadurch erklärt werden, dass der Lebertumor operativ entfernt wurde und es somit zu einer Reduktion der gamma-GT im Serum geführt hat.

4.2.2 Hepatische Funktion

Das Gesamtbilirubin umfasst das direkte und das indirekte Bilirubin. Das indirekte unkonjugierte Bilirubin ist nicht an Glukuronsäure gebunden, sondern befindet sich frei im Blut. Es ist nicht wasserlöslich und kann daher nicht über die Nieren mit dem Urin ausgeschieden werden. Das direkte konjugierte Bilirubin ist an Glukuronsäure gebunden und daher wasserlöslich, sodass es über die Nieren mit dem Urin ausgeschieden werden kann [DÖRNER 2003]. Ein Anstieg des Serumbilirubin (gesamt) kann verschiedene Ursachen haben. Dieser kann hepatozellulären Ursprungs in Folge von Schäden der Leberzellen sein, wodurch nicht genügend Bilirubin in der Leber glucuronidiert werden kann. Intrahepatisch kann er durch eine Destruktion der Gallenabflusswege mit Cholestase entstehen, was beim fortschreitenden CCC und Klatskintumor der Fall sein kann. Ein posthepatischer Gallenstau beispielsweise kann durch Kompression eines wachsenden Tumors hervorgerufen werden [DÖRNER 2003]. Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich, dass bei allen drei Gruppen das Serumbilirubin (gesamt) präoperativ sich im Normbereich befand. Sowohl Gruppe I (<3 Segmente) als auch Gruppe III (5-6 Segmente) zeigten einen interindividuellen konstanten postoperativen Normalverlauf im Referenzbereich. Bei der Gruppe II (3-4

Segmente) hingegen kam es am 1.post-op Tag zu einem Anstieg sowie weiter bis zum 4.-5.post-op Tag (vgl. Kap.3.2.4). Anhand dieser Daten lässt sich vermuten, dass es nach einer Leberresektion zu einer Hyperbilirubinämie kommen kann. Eine Abhängigkeit bzw. Trend vom Leberparenchymverlust lässt sich daraus nicht ableiten. Interessanterweise zeigten sich in dieser Studie bei ausgedehnten Lebertumoren, welche eine Leberresektion vom 5-6 Segmenten benötigten, sowohl prä- als auch postoperativ einen normalen Bilirubin Metabolismus. Möglicherweise und auch hypothetisch betrachtet sind in der Gruppe II (3-4 Segmente) jene Patienten vorhanden, welche noch mit einem anderen Komplikationsmuster (Alter und Konstitution des Patienten, Komorbiditäten, Medikamente, Wundheilungsstörungen) behaftet waren. In der Arbeitsgruppe Reissfelder et al. wurden laborchemische Untersuchungen nach einer Leberteileresektion durchgeführt. Hierbei wurden die Patienten abhängig vom Resektionsausmaß in zwei Gruppen unterteilt (Gruppe I ≤ 3 Segmente und Gruppe II > 3 Segmente präoperativ und während der ersten postoperativen Woche). Beim Serumbilirubin konnte beobachtet werden, dass der Anstieg des Serumbilirubins insgesamt proportional zum Resektionsausmaß war. Die Gruppe, welche einen kleineren Resektionsumfang benötigte, verzeichnete auch einen niedrigeren Anstieg [REISSFELDER 2011].

Der INR oder der Quick- Wert gehört zu den Syntheseleistungsparametern der Leber. So wurde kontrolliert, ob nach der Leberteileresektion die Syntheseleistung der Leber aufrechterhalten wird [DÖRNER 2003]. Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich, dass alle drei Gruppen präoperativ im INR Referenzbereich befanden. Intraoperativ kam es bereits zu einem leichten Anstieg aller Gruppen, wobei Gruppe II einen etwas höheren Anstieg aufzeigte als die beiden anderen Gruppen. Im weiteren Verlauf zeigte sich, dass bei Gruppe II und Gruppe III auch am 4.-5.post-op Tag der INR Spiegel leicht erhöht verbleibt. Bei Gruppe I hingegen normalisiert sich die Syntheseleistung mit INR Spiegeln auf nahezu präoperativen Ausgangsniveau. Diese Daten deuten auf eine Korrelation von Leberparenchymverlust und Lebersyntheseleistung hin und bestätigen die Ergebnisse der Arbeitsgruppe Reissfelder et al., welche ebenfalls die Höhe des INR-Wertes in Abhängigkeit vom Resektionsausmaß demonstrierten [REISSFELDER 2011].

4.2.3 Entzündung & Akute-Phase-Reaktion

Leukozyten sind weiße Blutkörperchen. Sie lassen sich nach Form und Aufgaben unterteilen in Granulozyten (Bildungsort Knochenmark) und Lymphozyten (Bildungsort lymphatisches Gewebe, Lymphknoten). Daneben gibt es in deutlich geringerer Zahl weitere weiße Blutkörperchen, wie Monozyten oder Plasmazellen. Im Groben erfüllen die weißen Blutkörperchen Funktionen bei der Abwehr und Bekämpfung von Krankheitserregern [DÖRNER 2003].

Alle drei Gruppen zeigten unabhängig vom Resektionsumfang eine normalen präoperativen Leukozyten-Wert. Auch zeigten sich zwischen den Gruppen intra- und postoperativ kaum Abweichungen außerhalb des Referenzbereichs. Insgesamt betrachtet erkennt man in dieser Studie, dass es im Verlauf kaum zu nennenswerten Leukozytenveränderungen kommt.

C-reaktives Protein (CRP) gehört zu den Akute-Phase-Proteinen mit Synthese in der Leber. Es wird als Reaktion auf die Freisetzung entzündlicher Zytokine (wie z.B. Interleukin 6) bei jeder Art von Entzündung im Körper sowie bei einigen Tumoren vermehrt exprimiert [MORRIS-STIFF 2008, DÖRNER 2003].

CRP zeigte bei den eigenen Untersuchungen in Gruppe I und II präoperativ einen Wert im Referenzbereich. Gruppe III hingegen hatte schon vor der Operation einen deutlich erhöhten Wert über Normbereich. Bei allen drei Gruppen erkennt man einen sehr ähnlichen Kurvenverlauf im Vergleich untereinander (vgl. Kap.3.2.7). Mögliche Ursache für den verzögerten Anstieg und Verlauf kann eine postoperative physiologische Reaktion im Sinne eines Regenerationsprozesses sein. Des Weiteren kann eine Konzentrationserhöhung im Blut allein bedingt durch den operativen Eingriff mitdiskutiert werden. Eine weitere Hypothese könnte sein, dass es postoperativ bei der Gruppe II und III mit höherem Lebervolumenverlust deshalb zu einem verzögerten und weniger steilen Anstieg wie bei der Gruppe I kommt, weil durch den höheren Volumenverlust weniger Gewebe zur CRP-Synthesebildung zur Verfügung steht. In der Arbeitsgruppe Reissfelder et al., wo auch der CRP-Wert im Verlauf nach einer Leberteileresektion untersucht wurde, zeigte sich auch ein verzögerter Anstieg um den dritten postoperativen Tag, welcher dann fortan im weiteren Verlauf wieder abfiel [REISSFELDER 2011].

4.2.4 Blutverlust

Hämoglobin ist der rote Blutfarbstoff in den Erythrozyten. Es ist verantwortlich für den Sauerstoff-Transport im Blut [DÖRNER 2003]. Die Ergebnisse unserer Studie zeigten bei dem Hämoglobinwert einen vom Resektionsausmaß unabhängigen sehr ähnlichen Verlauf. Der bei allen Gruppen abgefallene Hämoglobinwert ist hierbei als operationsbedingter Blutverlust zu bewerten.

4.2.5 Zelluläre Gerinnung

Thrombozyten tragen zur ersten Blutstillung und Gefäßabdichtung bei Verletzungen bei. Durch Mediatorstoffe aus dem Verletzungsgebiet (Defekt der Endothelschicht) kommt es zur Anlagerung von Thrombozyten, die als Thrombozytenthrombus bereits zur Abdichtung beitragen. Die verklumpten Thrombozyten setzen wiederum Mediatoren frei, die zur Bildung eines Blutgerinnsels (plasmatische Gerinnung) führen [DÖRNER 2003].

Bei den eigenen Untersuchungen ergab sich, dass alle drei Gruppen präoperativ einen normalen Thrombozytenwert hatten. Intraoperativ sowie am ersten postoperativen Tag verzeichneten alle drei Gruppen einen Thrombozytenabfall, wobei sich der Abfall immer noch nahezu im Referenzbereich gehalten hat (vgl. Kap.3.2.9). Der Thrombozytenabfall intra- und unmittelbar postoperativ lässt in unserer Studie auf einen operationsbedingten Thrombozytenverbrauch schließen. Die Tatsache, dass bei allen drei Gruppen postoperativ am 4.-5.post-op Tag der Thrombozytenverlauf sich wieder diskret konsolidierte, unterstützt die Vermutung. Der höhere Abfall der Thrombozyten in der Gruppe III könnte hypothetisch dadurch erklärt werden, dass es sich um den höchsten Resektionsumfang handelte und somit auch der Blutverlust inklusive größeren Thrombozytenverbrauch am höchsten war.

4.3 Zytokine

Die Untersuchung von Expressionsprofilen von mit Leberregeneration im Zusammenhang stehenden Zytokinen und Wachstumsfaktoren im peripheren Blut nach Leberresektion unterschiedlichen Ausmaßes diente dem präzisen Einblick in die Frühphase der Leberregeneration. Ferner sollte der Einfluss des Parenchymverlustes für die Beteiligung dieser Faktoren geprüft werden.

4.3.1 HGF (hepatocyte growth factor)

Der 'hepatocyte growth factor', welcher als erster Leberegenerationsfaktor aus dem Plasma von Patienten mit einer ausgeprägten Hepatitis sowie aus Blutplättchen von Ratten isoliert wurde, ist ein starkes Mitogen für Hepatozyten in der primären Kultur. HGF ist ein Glykoprotein, welches aus einer schweren Kette (60 kD) sowie aus einer leichten Kette (32 kD) besteht [NAKAMURA 1987, GOHDA 1988, MIYAZAWA 1989, NAKAMURA 1989]. Das Zytokin wird von mesenchymalen Zellen in verschiedenen Organen produziert und übt mitogene, motogene und morphogene Wirkungen unter anderem auf Epithelzelltypen, Melanozyten sowie Neuronen aus [SONNENBERG 1993, JUNG 1994]. Im hämatopoetischen System steigert HGF das Wachstum von Vorläuferzellen in Kooperation mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren wie Erythropoietin, Granulozyten-Makrophagenkoloniestimulierender Faktor (GM-CSF) und Interleukin-3 (IL-3) [KMIECIK 1992, MIZUNO 1993, GALIMI 1994].

Die Weiterleitung der HGF Signale in die Zielzelle wird über den Rezeptor MET, ein c-met Protoonkogen-Produkt vermittelt [WEIDNER 1993]. Der MET-Rezeptor besteht aus einer strukturellen Domäne, die sich aus einer Transmembrandomäne, einer Juxtamembrandomäne sowie einer Tyrosinkinasedomäne zusammensetzt. Die Bindung von HGF zum MET-Rezeptor induziert die Aktivierung der MET-Tyrosinkinase und die Autophosphorylierung von Tyrosinresten in MET [NAKAMURA 2011].

Das Zytokin HGF ist ein wichtiger Wachstumsfaktor, welcher das Fortschreiten des Zellzyklus während der Leberregeneration unterstützt [MATSUMOTO 1992, MICHALOPOULOS 2005]. Borowiak et al. demonstrierten in einer Studie, dass die Signalwirkung HGF / c-met essentiell für den Eintritt in den Zellzyklus nach einer Leberteileresektion sei und diese im weiteren Verlauf eine Aktivierung der extrazellulären signalregulierten Kinasen ermögliche [BOROWIAK 2004]. Im Vergleich dazu berichteten Huh et al., dass c-met defizitäre Hepatozyten in einer Studie bei Mäusen zu einer erhöhten Mortalität nach einer Teilresektion geführt hätten. Sie folgerten hieraus, dass die Signalwirkung HGF / c-met einen Schutz vor Apoptose sowie eine Erleichterung bei der Regeneration darstellt [HUH 2004].

Die Leberteileresektion als Proliferationsreiz weist ähnlich wie bei akuten Leberschäden einen erhöhten HGF-Plasmaspiegel mit nachfolgender DNA-Synthese in den Hepatozyten und anschließender Proliferation auf [SCHIRMACHER 1992]. In der Arbeitsgruppe Lindroos et al., wurde in einem tierexperimentellen Versuch beobachtet, dass bei teilhepatektomierter Ratten bereits früh im Blut ein erhöhter HGF-Serumspiegel gemessen wurde, noch bevor letztlich die DNA-Synthese und die eigentliche Leberregeneration gestartet wurde [LINDROOS 1991].

Bei den eigenen Untersuchungen zeigte sich postoperativ bei allen drei Gruppen ein HGF-Serumspiegelanstieg - unabhängig vom Leberparenchymverlust. Höhepunkt aller drei Gruppen war nahezu bei 24 Stunden postoperativ. Im weiteren Verlauf kam es dann bei allen Gruppen zu einem diskreten Serumspiegelabfall (vgl. Kap.3.3.1).

Ursache für den frühen HGF-Serumspiegelanstieg wird vermutlich die Leberteileresektion mit dem damit verbundenen Parenchymverlust sein. Die postoperative reaktive HGF-Ausschüttung könnte auch, wie es die AG Huh et al. diskutiert hat, ein Schutzmechanismus vor einer Apoptose darstellen.

Die AG Justinger et al. untersuchte die Ausschüttung der Zytokine HGF und VEGF (Vascular endothelial growth factor) nach einer Leberteileresektion sowie nach einer Pankreasresektion getrennt im Verlauf und demonstrierten unter anderem einen signifikanten Anstieg von HGF mit Höhepunkt um den zweiten postoperativen Tag

nach einer Leberteileresektion. Der unmittelbare postoperative Anstieg wurde hierbei als systemische Entzündung im Sinne einer Folgereaktion auf die große abdominale Operation sowie als Wundheilungsprozess interpretiert [JUSTINGER 2008].

Somit ähneln sich die Beobachtungen des frühen HGF-Serumspiegelanstiegs postoperativ unserer Studie mit den o.g. Studien. Vereinbar mit den Beobachtungen weiterer Studien anderer Arbeitsgruppen zeigte sich bei der Höhe des HGF-Plasmaspiegels auch kein Unterschied im Verhältnis zum Ausmaß des Leberparenchymverlustes [HU 1999, TOMIYA 1992]. Die Vermutung, wonach HGF im Szenario der Leberregeneration einen wichtigen parakrinen Stimulus darstellt, würde hiermit weiter unterstützt. Eine systemische Entzündung im Sinne einer Folgereaktion auf die große abdominale Operation sowie ein postoperativer Wundheilungsprozess wie es die AG Justinger et al. diskutiert, könnte als eine weitere Ursachenalternative in Betracht gezogen werden.

4.3.2 SDF-1 (stromal cell-derived factor-1)

Das Zytokin 'stromal cell-derived factor-1', welches auch als prä B-Zell-Wachstumsfaktor bekannt ist, wird von Stromazellen des Knochenmarks sowie von Epithelzellen in vielen Organen hergestellt [MAEKAWA 2000]. SDF-1 ist zwischen den Spezies hoch konserviert. Humanes und murines SDF-1 ist kreuzreaktiv und unterscheidet sich in nur einer Aminosäure [NAGASAWA 1998]. Bei Mausembryonen, bei denen ein Mangel an SDF-1 oder CXCR4 vorhanden ist, konnte in einer Studie eine erhöhte Mortalität beobachtet werden. Ein SDF-1 Defekt kann auch zu einer gestörten Ausbildung des ventrikulären Septums am Herzen, einer gestörten gastrointestinalen Blutgefäßbildung, einer fehlerhaften Verschaltung im Kleinhirn, zu einer reduzierten B-Zell Entwicklung in der Leber sowie zu einer eingeschränkten Hämatopoese im Knochenmark führen [NAGASAWA 1996, NAGASAWA 2000, TACHIBANA 1998, ZOU 1998]. Das Zytokin ist ein Überlebensfaktor für menschliche und murine koloniebildende Vorläuferzellen [BROXMEYER 1999, LATAILLADE 2000].

Studiendaten im Rahmen der Knochenmarksentwicklung sprechen der Interaktion von SDF-1 / CXCR4, in der murinen fetalen Leber, eine bedeutsame Rolle beim

Stammzellhoming zu [SALCEDO 1999]. Das Stammzellhoming und die Stammzelltransplantation sind vermutlich ein mehrstufiger Prozess, welcher einhergeht mit gemeinsamen Merkmalen wie der Migration von Leukozyten in entzündliches Gebiet sowie das Anlagern von Lymphozyten in Lymphknoten [SPRINGER 1994, BUTCHER 1996]. Transplantierte humane Zellen, welche im Blut zirkulieren, müssen mit den Endothelzellen der Blutgefäße des Knochenmarks interagieren. Diese Wechselwirkungen werden durch die Koordination von aktivierten Adhäsionsmolekülen, wie zum Beispiel durch das Zytokin SDF-1, ermöglicht [SPRINGER 1994, BUTCHER 1996, MOHLE 1997, QUESENBERRY 1998, FRENETTE 1998].

Das Zytokin ermöglicht des Weiteren die Migration von CD34+ peripheren Progenitorzellen durch die subendotheliale Basalmembran der Blutgefäße des Knochenmarks mittels Regulation der Matrix-abbauenden Metalloproteinasen (MMPs). Diese Enzyme, welche von den Zellen der Hämatopoese, des Endothels und Epithels gebildet werden, partizipieren beim Homing sowie bei der Freisetzung hämatopoetischer Stammzellen, indem sie eine Penetration durch das Endothel und Knochenmarkstroma mittels Abbau aller Komponenten der extrazellulären Matrix ermöglichen [JANOWSKA-WIECZOREK 2000].

Verschiedene Studien am Menschen und am Mausmodell haben gezeigt, dass das Zytokin SDF-1 und sein Rezeptor CXCR4 an der Rekrutierung von inflammatorischen Zellen bei Leberschäden beteiligt ist und durch Induktion es zu einer endogenen Proliferation von intrahepatischen „Oval“-Zellen führt [SPRINGER 1994, HATCH 2002]. Die Wechselwirkungen von SDF-1 / CXCR4 zeigen eine Beteiligung bei der Mobilisation von hämatopoetischen Stammzellen aus dem Knochenmark zur geschädigten Leber hin [BUTCHER 1996, QUESENBERRY 1998]. SDF-1 ist ein potenter Chemolockstoff für hämatopoetischen Stammzellen. Im adulten Knochenmark erfolgt die Freisetzung von hämatopoetischen Stammzellen in die periphere Zirkulation unter anderem durch einen SDF-1 gesteuerten Konzentrationsgradienten [BLEUL 1996, KIM et BROXMEYER 1998, KIM et PELUS 1998]. Erhöhte Plasmaspiegel von SDF-1 wurden bei Autoimmun- und Viruserkrankungen, bei abgestoßenen Lebertransplantaten

sowie bei autoimmunen / viralen Lebererkrankungen beobachtet [SPRINGER 1994, GODDARD 2001].

Der 'stromal cell-derived factor-1' ergab bei den eigenen Untersuchungen einen postoperativen Abfall nach ungefähr 6 Stunden in allen drei Gruppen und anschließendem Anstieg auf nahezu präoperatives Ausgangsniveau nach 48 Stunden (vgl. Kap.3.3.2).

In der AG Kollet et al. wurde in einem Mausmodell gezeigt, dass die Interaktion von SDF-1 / CXCR4 eine Schlüsselrolle in der Migration von menschlichen Vorläuferzellen zur Mäuseleber hin spielt. Des Weiteren wurde bei bestrahlten NOD / SCID Mäusen beobachtet, dass durch eine Neutralisation des CXCR4-Rezeptors mittels einem anti-CXCR4-Antikörper hierdurch eine signifikante Hemmung des Homings von humanem Nabelschnurblut oder peripher mobilisierten CD34+ Stammzellen zur Leber hin erreicht wurde. Lokale Injektionen von humanem SDF-1 in das Mausleberparenchym erhöhte hingegen die hepatische Migration von Stammzellen [KOLLET 2003].

Weitere Untersuchungen der AG Kollet et al. demonstrierten peripher erhöhte HGF-Spiegel nach einem Leberschaden. Dieser Anstieg führt, in gemeinsamer Synergie mit SDF-1 / CXCR4 potenziert durch SCF, zu einer Erhöhung der Motilität von humanen Vorläuferzellen und induziert eine direkte Migration von rekrutierten CD34+ Stammzellen zur geschädigten Leber [KOLLET 2003].

In einer anderen Arbeitsgruppe Terada et al. wurde beobachtet, dass der SDF-1 / CXCR4 – Plasmaspiegel bei Patienten mit einer viralen Hepatitis, Leberzirrhose, Primär biliäre Zirrhose oder auch einer Autoimmunhepatitis hochreguliert war. Insofern spielt SDF-1 vermutlich keine vordergründige Rolle in der Leberregeneration nach einer Teilresektion [TERADA 2003]. Unsere Studienbeobachtung lässt nicht unbedingt vermuten, dass SDF-1 eine unmittelbare Schlüsselrolle bei der Leberregeneration nach einem operativ bedingten Parenchymverlust hat. Eine mögliche Ursache für den beobachteten SDF-1 Plasmaabfall könnte sein, dass es sich bei der Studie um Patientenfälle und Diagnosen handelte, wo kein Autoimmungeschehen oder eine Hepatitis viraler Genese vorhanden war.

4.3.3 SCF (stem cell factor)

Der c-Kit Rezeptor und sein Ligand SCF sind für die Blutbildung, Melanogenese und Fertilität essentiell. SCF wirkt auf verschiedenen Ebenen der Hämatopoese, um das Überleben der Zelle, die Zellproliferation, die Differenzierung und Adhäsion sowie die funktionellen Aktivierung zu ermöglichen. Dabei ist der c-Kit Rezeptor und SCF nicht nur bei den Mastzellen und Entwicklung der roten Zellreihe von besonderer Bedeutung, sondern wirkt auch auf multipotente Stammzellen, Progenitorzellen, Megakaryozyten und auf ausgewählte lymphoide Vorläuferzellen. SCF existiert in löslicher oder transmembraner Form, die sich aber anscheinend funktionell voneinander unterscheiden. Vom c-Kit Rezeptor existieren in bestimmten Zelltypen, aufgrund von unterschiedlichen mRNA-Spleißens und proteolytischer Spaltung, mehrere Isoformen [ASHMAN 1999].

Zytokine, wie unter anderem auch der Stammzellfaktor (SCF) sind Kandidaten beim Umbau der Leber. Diese regulieren die Knochenmark Produktion von zirkulierenden roten Blutkörperchen, weiße Blutkörperchen und Blutplättchen. Die Zytokine wirken auch auf Stammzellen, die zu einer linienspezifischen Differenzierung führen [BATH 2006]. SCF reguliert dabei die Differenzierung von CD34+ Stammzellen [AKEL 2003].

In einem Tiermodell wurde untersucht, wie sich die Expression von SCF und c-Kit Rezeptor während der Leberregeneration über das „Oval“-Zellkompartiment nach einer partiellen Hepatektomie und Verabreichung von einer nichtkanzerogenen Dosis von 2-Acetylaminofluoren über 8 Tage in adulten Ratten entwickelt. Dabei wurde beobachtet, dass in Kombination von partiellen Hepatektomie und Verabreichung von 2-Acetylaminofluoren es sowohl zu einem frühen Anstieg der „Oval“-Zellproliferation als auch zu einer deutlichen Expression des SCF / c-Kit Systems kommt. Hingegen zeigte eine alleinige partielle Hepatektomie oder Verabreichung von 2-Acetylaminofluoren keine nennenswerten Veränderungen des SCF / c-Kit Systems [FUJIO 1994].

Die Arbeitsgruppe Ren et al. demonstrierte in einem Versuch bei Mäusen, dass nachdem 70% des Leberparenchyms reseziert wurde, es in der Leber zu einem Abfall des SCF-Levels wohingegen es gleichzeitig im peripheren Blut es zu einem Anstieg des

SCF Spiegels kam. Eine SCF Blockade, einerseits durch SCF-Antikörper oder andererseits durch gentechnisch veränderte Mäuse, zeigte nach einer Leberteilektomie eine Hemmung der Hepatozytenproliferation. Bei gentechnisch veränderten Mäusen, die kein SCF bildeten, kam es nach SCF Substitution wieder zu einer Hepatozytenproliferation [REN 2003]. Der 'stem cell factor' scheint nicht nur leberregenerative, sondern auch leberprotektive Eigenschaften zu besitzen. Simpson et al. demonstrierte in einem Mausmodell, dass toxische induzierte Leberschäden durch SCF verringert werden könnten [SIMPSON 2003].

In der Arbeitsgruppe Mansuroglu et al. wurde im Vergleich untersucht, wie sich die Expression des SCF / c-Kit Systems beim Leberzellkarzinom (HCC) und dem entsprechenden peritumoralen Gewebe verhält. Hierbei zeigte sich, dass der c-Kit Rezeptor sowohl auf den Hepatozyten unter physiologischen als auch unter pathologischen Bedingungen in unterschiedlicher Intensität exprimiert wurde. Die Beobachtung hierbei, dass der c-Kit Rezeptor auch auf der HCC-Zelllinie vorhanden war, unterstützt hierbei die Vermutung, dass SCF in der Regulation der Proliferationsaktivität sowohl bei tumorösen als auch bei nichttumorösen Hepatozyten eine besondere Rolle spielt [MANSUROGLU 2009].

Die Arbeitsgruppe Baccarani et al. untersuchte in einer Studie die Auswirkungen einer Leberresektion und Lebertransplantation auf den SCF-Spiegel im peripheren Blut und verglich sie miteinander. Eine bemerkenswerte Beobachtung dieser Studie war, dass es bei beiden Gruppen eine statistisch signifikante SCF-Spiegelerhöhung um den dritten postoperativen Tag gab. Im weiteren Verlauf (um den siebten postoperativen Tag) der Untersuchung fiel der SCF-Serumspiegel wieder auf nahezu präoperatives Ausgangsniveau ab [BACCARANI 2005].

Der 'stem cell factor' als hämatopoetischer Faktor, welcher für die Proliferation und Differenzierung von verschiedenen Typen von KMSZ verantwortlich zu sein scheint [ZSEBO 1990, MATSUI 1990, SHIMIZU 1996, KURATA 1998], ergab bei den eigenen Untersuchungen einen auch teilweise statistisch signifikanten postoperativen Anstieg in Abhängigkeit vom Leberparenchymverlust (vgl. Kap.3.3.3).

Die Beobachtungen aus den Studien der verschiedenen Arbeitsgruppen sowie unsere Ergebnisse lassen vermuten, dass SCF, neben der Regulation von hämatopoetischen Stammzellen, auch im Rahmen der frühen Leberregeneration und Hepatozytenproliferation eine wichtige Rolle spielt.

Der frühe postoperative Anstieg des SCF-Spiegels im Blut ähnelt den Beobachtungen analog zum Tiermodell von der AG Ren et al. (2003) sowie der AG Baccarani et al. (2005). Die Leber scheint durch eine Teilresektion einen Proliferationsreiz zu erhalten, der unter anderem eine unmittelbare Hepatozytenproliferation sowie eine SCF Ausschüttung im Blut induziert. Analog zum Tiermodell bei Ren et al. (2003) wurde in unserer Studie der SCF-Level im Blut untersucht und eine postoperative Spiegelerhöhung demonstriert. Die Beobachtungen des postoperativen SCF-Levels der AG Baccarani et al. (2005) ähneln sich mit unseren Ergebnissen. Im Unterschied zu Baccarani et al. zeigte sich in unserer Studie der SCF-Höhepunkt um den ersten postoperativen Tag. Die sehr frühe postoperative Untersuchung des SCF-Levels unserer Studie sowie die differenzierte Einteilung nach Leberparenchymverlust ermöglichen im Ganzen einen zusätzlichen Informationsgewinn zum weiteren Verständnis der Leberregeneration.

5. Schlussfolgerung und mögliche Weiterentwicklung

In der vorliegenden Studie wurde die Kinetik der Ausschüttung von stammzellspezifischen Wachstumsfaktoren und Chemokinen nach einer Leberteileresektion untersucht. Zytokine wie HGF, SCF werden früh nach hepatischer Resektion prononciert im Serum exprimiert. Bei der Ausschüttung von SCF scheint es einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Leberteileresektion und dem SCF-Spiegel im peripheren Blut zu geben. SDF-1 scheint in der vorliegenden Untersuchung primär keine vordergründige Rolle zu spielen. Bislang wurde die sehr frühe Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Chemokinen nach einer Leberteileresektion mit unterschiedlichem Umfang untersucht. So sollte diese Studie im Gesamtzusammenhang einen zusätzlichen Beitrag zum weiteren Verständnis der Leberregeneration leisten. Eine mögliche Folgestudie könnte die Untersuchung stammzellspezifischer Wachstumsfaktoren und Chemokine im Zusammenhang mit der Mobilisation von peripheren Progenitorzellen sein.

6. Literaturverzeichnis

Akel, S.; Petrow-Sadowski, C.; Laughlin, M.J.; Ruscetti, F.W. (2003): Neutralization of autocrine transforming growth factor-beta in human cord blood CD34(b)CD38(-)Lin(-) cells promotes stem-cell-factor-mediated erythropoietin-independent early erythroid progenitor development and reduces terminal differentiation. *Stem Cells* 21:557-567

Alison, M.R.; Golding, M.; Sarraf, C.E. (1997): Liver stem cells: when the going gets tough they get going. *Int J Exp Pathol.* 78(6): 365-81

Alison, M.R.; Poulson, R.; Jeffery, R.; Dhillon, A.P.; Quaglia, A.; Jacob, J.; Novelli, M.; Prentice, G.; Williamson, J.; Wright, N.A. (2000): Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 406(6793): 257

Aronsen, K.F.; Ericsson, B.; Pihl, B. (1969): Metabolic changes following major hepatic resection. *Ann Surg.* 169(1):102-10

Ashman, L.K.; et al. (1999): The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. *Int J Biochem Cell Biol.* 31(10):1037-51

Baccarani, U.; De Stasio, G.; Adani, G.L.; Donini, A.; Sainz-Barriga, M.; Lorenzin, D.; Beltrami, A.; Bresadola, V.; Risaliti, A.; Bresadola, F. (2006): Implication of stem cell factor in human liver regeneration after transplantation and resection. *Growth Factors*, 24(2): p. 107-10

Bath, P.M.; Sprigg, N. (2006): Colony stimulating factors (including erythropoietin, granulocyte colony stimulating factor, and analogues) for stroke. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD005207

Bismuth, H. (1982): Surgical anatomy and anatomical surgery of the liver. *World J. Surg.* 6 (1) 3-9

- Bleul, C.C.; Fuhlbrigge, R.C.; Casasnovas, J.M.; Aiuti, A.; Springer, T.A. (1996):** A highly efficacious lymphocyte chemoattractant, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1). *J. Exp. Med.* 184, 1101–1109
- Bottaro, D.P.; Rubin, J.S.; Faletto, D.L.; et al. (1991):** Identification of the Hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. *Science.* 251:802–804
- Borowiak, M.; Garratt, A.N.; Wustefeld, T.; Strehle, M.; Trautwein, C. Birchmeier, C. (2004):** Met provides essential signals for liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:10608-10613
- Bruch, H.-P.; Trentz, O. (Hg.) (2000):** Berchtold Chirurgie. 4. Auflage
Urban&Fischer
- Broxmeyer, H.E.; Hangoc, G.; Cooper, S.; Kim, C.H. (1999):** Enhanced myelopoiesis in SDF-1-transgenic mice: SDF-1 modulates myelopoiesis by regulating progenitor cell survival and inhibitory effects of myelosuppressive chemokines. *Blood* 94: 650
- Butcher, E.C.; Picker, L.J. (1996):** Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 272: 60–66
- Cantlie, J. (1897):** On a new arrangement of the right and left lobes of the liver
Proc Anat Soc Great Britain Ireland 32: 4-9
- Castro E Silva, O.; Mente, E.D.; Sankarankutty A.K.; Souza, M.E.; Gomes, M.C.; Picinato, M.A.; Fina, C.F.; Lopes, J.R. Jr. (2011):** Biochemical liver function after partial hepatic resection with or without partial hepatic vascular exclusion. *Acta Cir Bras.* 26 Suppl 2:120-4

- Couinaud, C. (1954):** Lobes et Segments hepaticque: notes sur la architecture et chirurgical du foie. Press Med. 62 (33) 709-12
- Crosby, H.A.; Kelly, D.A.; Strain, A.J. (2001):** Human hepatic stem-like cells isolated using c-kit or CD34 can differentiate into biliary epithelium. Gastroenterology. 120(2): 534-44
- Dalakas, E.; Newsome, P.N.; Harrison, D.J.; Plevris, J.N. (2005):** Hematopoietic stem cell trafficking in liver injury. Faseb J, 19(10): 1225-31
- De Vos, R.; Desmet V. (1992):** Ultrastructural characteristics of novel epithelial cell types identified in human pathologic liver specimens with chronic ductular reaction. Am J Pathol. 140(6): 1441-50
- Dörner, K. (2003):** Klinische Chemie und Hämatologie. 5. Auflage
Thieme
- Drenckhahn, D.; Zenker, W. (Hg.) (1994):** Benninghoff Anatomie. Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen. 15. völlig neu bearbeitete Auflage. München/Wien/Baltimore: Urban&Schwarzenberg
- Efimova, E.A.; Glanemann, M.; Nussler, A.K.; Schumacher, G.,; Settmacher, U.; Jonas, S.; Nussler, N.; Neuhaus, P. (2005):** Changes in serum levels of growth factors in healthy individuals after living related liver donation. Transplant Proc. 37:1074
- Fausto, N.; Campbell, J. S.; Riehle, K. J. (2006):** „Liver regeneration“, Hepatology 43, 45–53
- Frank; Kostner; Kratky; Levak-Frank; Malle; Sattler; Schmidt; Steyrer; Wintersperger (2006):** Praktikumsskriptum Teil Biochemie, 4. Auflage. Institut für Molekularbiologie und Biochemie, Graz

- Frenette, P.S.; Subbarao, S.; Mazo, I.B et al. (1998):** Endothelial selectins and vascular cell adhesion molecule-1 promote hematopoietic progenitor homing to bone marrow. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 14423–14428
- Fujio, K.; Evarts, R.P.; Hu, Z.; Marsden, E.R.; Thorgeirsson, S.S. (1994):** Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab. Invest.* 70:511–516
- Fujii, H.; Hirose, T.; Oe, S.; Yasuchika, K.; Azuma, H.; Fujikawa, T.; Nagao, M.; Yamaoka, Y. (2002):** Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Hepatol.* 36(5): 653-9
- Fürst, G.; Schulte am Esch, J., 2nd ; Poll, L.W.; Hosch, S.B.; Fritz, L.B.; Klein, M.; Godehardt, E.; Krieg, A.; Wecker, B.; Stoldt, V.; Stockschläder, M.; Eisenberger, C.F.; Mödder, U.; Knoefel W.T. (2007):** Portal vein embolization and autologous CD133+ bone marrow stem cells for liver regeneration: initial experience. *Radiology.* 243(1):171-9
- Gherardi, E.; Stoker, M. (1990):** Hepatocytes and scatter factor. *Nature* 346, 228
- Galimi, F.; Bagnara, G.P.; Bonsi, L. (1994):** Hepatocyte growth factor induces proliferation and differentiation of multipotent and erythroid hemopoietic progenitors. *J Cell Biol.* 127:1743–1754
- Goddard, S.; Williams, A.; Morland, C.; Qin, S.; Gladue, R.; Hubscher, S.G.; Adams, D.H. (2001):** Differential expression of chemokines and chemokine receptors shapes the inflammatory response in rejecting human liver transplants. *Transplantation* 72, 1957–1967

- Gohda, E.; Tsubouchi, H.; Nakamura, H.; Hirano, S.; Saluyama, O.; Takahashi, K.; Miyazaki, H.; Hashimoto, S.; Daikubara, Y. (1988):** Purification and partial characterization of hepatocyte growth factor from plasma of a patient with hepatic failure. *J Clin Invest* 81:414-419
- Golding, M.; Sarraf, C.E.; Lalani, E.N.; Anilkumar, T.V.; Edwards, R.J.; Nagy, P.; Thorgeirsson, S.S.; Alison, M.R. (1995):** Oval cell differentiation into hepatocytes in the acetylaminofluorene-treated regenerating rat liver. *Hepatology*. 22(4 Pt 1): 1243-53
- Grisham, J.W.; Thorgeirsson, S.S. (1997):** in *Stem Cells*, C.S. Potten, ED (Academic Press, San Diego, CA,) chap. 8
- Grisham, J.W.; Hartroft, W.S. (1961):** Morphologic identification by electron microscopy of "oval" cells in experimental hepatic degeneration. *Lab Invest*. 10: 317-32
- Hashimoto, K.; Ikeda, Y.; Korenaga, D. (2005):** The impact of preoperative serum C-reactive protein on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma *Cancer*, 103 pp. 1856–1864
- Hatch, H.M.; Zheng, D.; Jorgensen, M.L.; Petersen, B.E. (2002):** SDF-1alpha/CXCR4: a mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats. *Cloning Stem Cells*, 2002. 4(4): 339-51
- Hirner, A.; Weise, K. (2004):** *Chirurgie. Schnitt für Schnitt*. Stuttgart / New York: Thieme
- Hu, R.H.; Lee, P.H.; Yu, S.C.; Sheu, J.C.; Lai, M.Y. (1999):** Serum hepatocyte growth factor before and after resection for hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*. May-Jun;46(27):1842-7

- Huh, C.G.; Factor, V.M.; Sanchez, A.; Uchida, K.; Conner, E.A.; Thorgeirsson, S.S. (2004):** Hepatocyte growth factor/c-met signaling pathway is required for efficient liver regeneration and repair. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:4477-4482
- Jang, Y.Y.; Collector, M.I.; Baylin, S.B.; Diehl, A.M.; Sharkis, S.J. (2004):** Hematopoietic stem cells convert into liver cells within days without fusion. *Nat Cell Biol*, 2004. 6(6): 532-9
- Janowska-Wieczorek, A.; Marquez, L.A.; Dobrowsky, A. et al. (2000):** Differential MMP and TIMP production by human marrow and peripheral blood CD34(+) cells in response to chemokines. *Exp. Hematol.* 28: 1274–1285
- Jung, W.; Castren, E.; Odenthal, M.; van de Woude, G. F.; Ishii, T.; Dienes, H. P.; Lindholm, D.; Schirmacher, P. (1994):** Expression and functional interaction of Hepatocyte Growth Factor-Scatter Factor and its receptor c-met in mammalian brain. *J. Cell. Biol.* 126, 485–494
- Justinger, C.; Schlüter, C.; Oliviera-Frick, V.; Kopp, B.; Rubie, C.; Schilling, M.K. (2008):** Increased growth factor expression after hepatic and pancreatic resection. *Oncol Rep.* 20(6):1527-31
- Kim, C.H.; Broxmeyer, H.E. (1998):** In vitro behavior of hematopoietic progenitor cells under the influence of chemoattractants: stromal cell-derived factor-1, steel factor, and the bone marrow environment. *Blood* 91, 100–110
- Kim, C.H.; Pelus, L.M.; White, J.R.; Broxmeyer, H.E. (1998):** Differential chemotactic behavior of developing T cells in response to thymic chemokines. *Blood* 91, 4434–4443
- Klempnauer, J.; Kip, A. (1997):** *Chirurgie der Leber: interaktives Lernprogramm.* CD-ROM; Urban & Schwarzenberg

- Kmieciak, T.E.; Keller, J.R.; Rosen, E.; van deWoude, G.F. (1992):** Hepatocyte growth factor is a synergistic factor for the growth of hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 80:2454–2457
- Kollet, O.; Shivtiel, S.; Chen, Y.Q.; Suriawinata, J.; Thung, S.N.; Dabeva, M.D.; Kahn, J.; Spiegel, A.; Dar, A.; Samira, S.; Goichberg, P.; Kalinkovich, A.; Arenzana-Seisdedos, F.; Nagler, A.; Hardan, I.; Revel, M.; Shafritz, D.A.; Lapidot, T. (2003):** HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest*, 112(2): 160-9
- Korbling, M.; Katz, R.L.; Khanna, A.; Ruifrok, A.C.; Rondon, G.; Albitar, M.; Champlin, R.E.; Estrov, Z. (2002):** Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *N Engl J Med*. 346(10): 738-46
- Kurata, H.; Mancini, G.C.; Alespeiti, G.; Migliacco, A.R; Migliacco, G. (1998):** Stem cell factor induces proliferation and differentiation of fetal progenitor cells in the mouse. *Br. J. Haematol*. 101:676–687
- Koukoulis, G.; Rayner, A.; Tan, K.C.; Williams, R.; Portmann, B. (1992):** Immunolocalization of regenerating cells after submassive liver necrosis using PCNA staining. *J Pathol*. 166(4): 359-68
- Kremer, K.; Lierse W.; Platzer W.; Schreiber H.W.; Weller S. (1993):** Chirurgische Operationslehre . Stuttgart / New York: Thieme
- Lagasse, E.; Connors, H.; Al-Dhalimy, M.; Reitsma, M.; Dohse, M.; Osborne, L.; Wang, X.; Finegold, M.; Weissman, I.L.; Grompe, M. (2000):** Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med*. 6(11): 1229-34

- Lan, A.K.-M.; Luk, H.-N; Goto, S. (2003):** Stress response to hepatectomy in patients with a healthy or a diseased liver. *World J Surg*, 27 pp. 761–764
- Lange, C.; Bruns, H.; Kluth, D.; Zander, A.R.; Fiegel, H.C. (2006):** Hepatocytic differentiation of mesenchymal stem cells in cocultures with fetal liver cells. *World J Gastroenterol*. 12(15): 2394-7
- Lataillade, J.J.; Clay, D.; Dupuy, C. et al. (2000):** Chemokine SDF-1 enhances circulating CD34(+) cell proliferation in synergy with cytokines: possible role in progenitor survival. *Blood* 95: 756–768
- Leonhardt, H.; Tillmann, B.;Töndury, G.; Zilles, K. (Hg.) (1987):** Rauber/Kopsch Anatomie des Menschen. Lehrbuch und Atlas. Band 2 Innere Organe. Stuttgart / New York: Thieme
- Lindroos, P. M.; Zarnegar, R.; Michalopoulos, G. K. (1991):** Hepatocyte growth factor (hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology* 13, 743–750
- Lo, C.M.; Fan S.T.; Liu C.L. et al. (1997):** Extending the limit on the size of adult recipient in living donor liver transplantation using extended right lobe graft. *Transplantation*. 63 (10) 1524-8
- Maekawa, T.; Ishii T. (2000):** Chemokine/receptor dynamics in the regulation of hematopoiesis. *Intern. Med.* 39: 90–100
- Mansuroglu, T.; Baumhoer, D.; Dudas, J.; Haller, F.; Cameron, S.; Lorf, T.; Füzesi, L.; Ramadori, G. (2009):** Expression of stem cell factor receptor c-kit in human nontumoral and tumoral hepatic cells. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. (10):1206-11

- Matsuda-Hashii, Y.; Takai, K.; Ohta, H.; Fujisaki, H.; Tokimasa, S.; Osugi, Y.; Ozono, K.; Matsumoto, K.; Nakamura, T.; Hara, J. (2004):** Hepatocyte growth factor plays roles in the induction and autocrine maintenance of bone marrow stromal cell IL-11, SDF-1 alpha, and stem cell factor. *Exp Hematol.* 32(10):955-61
- Matsumoto, K.; Nakamura, T. (1992):** Hepatocyte growth factor: molecular structure, roles in liver regeneration, and other biological functions. *Crit Rev Oncogene* 3:27-54
- Matsui, Y.; Zsebo, K.M.; Hogan, B.L. (1990):** Embryonic expression of a haematopoietic growth factor encoded by the Sl locus and the ligand for c-kit. *Nature.* 347:667–669
- Menthen, A.; Deb, N.; Oertel, M.; Grozdanov, P.N.; Sandhu, J.; Shah, S.; Guha, C.; Shafritz, D.A.; Dabeva, M.D. (2004):** Bone marrow progenitors are not the source of expanding oval cells in injured liver. *Stem Cells.* 22(6): 1049-61
- Michalopoulos, G. K.; Zarnegar, R. (1992):** Hepatocyte Growth Factor. *Hepatology* 15, 149–155
- Michalopoulos, G.K.; Khan, Z. (2005):** Liver regeneration, growth factors, and amphiregulin. *Gastroenterology* 128:503-506
- Michalopoulos, G. K. (2007):** „Liver regeneration“, *Journal of Cellular Physiology* 213, 286–300
- Mizuno, K.; Higuchi, O.; Ihle, J.N.; Nakamura, T. (1993):** Hepatocyte growth factor stimulates growth of hematopoietic progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 194:178–186

- Miyazawa, K.; Tsubouchi, H.; Naka, D.; Takahashi, K.; Okigaki, M.; Arakaki, N.; Nakamura, H.; Hirano, S.; Sakiyama, O.; Takahashi, K.; Gohda, E.; Daikuhara, Y.; Kitamura, N. (1989):** Molecular cloning and sequence analysis of cDNA for human hepatocyte growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* 163:967
- Mohle, R.; Moore, M.A.; Nachman, R.L.; Rafii, S. (1997):** Transendothelial migration of CD34+ and mature hematopoietic cells: an in vitro study using a human bone marrow endothelial cell line. *Blood* 89: 72–80
- Montesano, R.; Matsumoto, K.; Nakamura, T.; Orci, L. (1991):** Identification of a fibroblast-derived epithelial morphogen as hepatocyte growth factor. *Cell*. 67:901–908
- Morris-Stiff, G.; Gomez, D.; Prasad, K.R. (2008):** C-reactive protein in liver cancer surgery. *Eur J Surg Oncol*. 727-9.
- Morimoto, M.; Tsujimura, T.; Kanakura, Y.; Kitamura, Y.; Matsuda, H. (1998):** Expression of c-kit and stem cell factor mRNA in liver specimens from healthy adult dogs. *Am. J. Vet. Res.* 59:363–366
- Nagasawa, T.; Tachibana, K.; Kishimoto, T. (1998):** A novel CXC Chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4: their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. *Semin. Immunol.* 10: 179–185
- Nagasawa, T.; Hirota, S.; Tachibana, K. et al. (1996):** Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF- 1. *Nature* 382: 635–638
- Nakamura, T.; Nawa, K.; Ichihara, A. (1984):** Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 122:1450–1459

Nakamura, T.; Nawa, K.; Ichihara, A.; Kaise, N.; Nishino T. (1987): Subunit structure of hepatocyte growth factor from rat platelets. *FEBS Lett* 224:311

Nakamura, T.; Nishizawa, T.; Hagiya, M.; et al. (1989): Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature*. 342: 440–443

Nakamura, T.; Sakai, K.; Nakamura, T.; Matsumoto, K. (2011): Hepatocyte growth factor twenty years on: Much more than a growth factor. *J Gastroenterol Hepatol*. 26 Suppl 1:188-202. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06549.x. Review

Nagel, E.; Löhlein, D. (2005): Pichlmayrs Chirurgische Therapie. Berlin Heidelberg: Springer 335–368

Newsome, P.N.; Johannessen, I.; Boyle, S.; Dalakas, E.; McAulay, K.A.; Samuel, K.; Rae, F.; Forrester, L.; Turner, M.L.; Hayes, P.C.; Harrison, D.J.; Bickmore, W.A.; Plevris, J.N. (2003): Human cord blood-derived cells can differentiate into hepatocytes in the mouse liver with no evidence of cellular fusion. *Gastroenterology*, 124(7): 1891-900

Omori, M.; et al. (1997): Expression of alpha-fetoprotein and stem cell factor/c-kit system in bile duct ligated young rats. *Hepatology*. 25:1115–1122

Petersen, B.E.; Bowen, W.C.; Patrene, K.D.; Mars, W.M.; Sullivan, A.K.; Murase, N.; Boggs, S.S.; Greenberger, J.S.; Goff, J.P. (1999): Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 284(5417): 1168-70

Quesenberry, P.J.; Becker, P.S. (1998): Stem cell homing: rolling, crawling, and nesting. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 15155–15157

Ramadori, G.; Neubauer, K.; Odenthal, M., Nakamura, T.; Knittel, T.; Schwögler, S.; Meyer zum Büschenfelde, K.-H. (1992): The Gene of Hepatocyte Growth Factor is expressed in Fat-Storing Cells of Rat Liver and is downregulated during Cell Growth and by Transforming Growth Factor- β . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 183, 739-742

Rao, M.S.; Yukawa, M.; Omori, M.; Thorgeirsson, S.S.; Reddy, J.K. (1996): Expression of transcription factors and stem cell factor precedes hepatocyte differentiation in rat pancreas. *Gene Expr.* 6:15–22

Ratajczak, M.Z.; Kucia, M.; Reza, R.; Majka, M.; Janowska-Wieczorek, A.; Ratajczak, J. (2003): Stem cell plasticity revisited: CXCR4-positive cells expressing mRNA for early muscle, liver and neural cells 'hide out' in the bone marrow. *Leukemia* 30: 30

Ren, X.; Hogaboam, C.; Carpenter, A.; Colletti, L. (2003): Stem cell factor restores hepatocyte proliferation in IL-6 knockout mice following 70% hepatectomy. *J Clin Invest*, 2003. 112(9): 1407-18

Reissfelder, C.; Rahbari, N. N.; Koch, M.; Kofler, B.; Sutedja, N.; Elbers, H.; Büchler, M. W.; Weitz, J. (2011): Postoperative course and clinical significance of biochemical blood tests following hepatic resection. *Br J Surg.* 98(6):836-44

Rubin, J.S.; Chan, A.M.; Bottaro, D.P.; et al. (1991): A broad-spectrum human lung fibroblast-derived mitogen is a variant of hepatocyte growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 88:415–419

Salcedo, R.; Wasserman, K.; Young, H.A. et al. (1999): Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induce expression of CXCR4 on human endothelial cells: in vivo neovascularization induced by stromal-derived factor-1 α . *Am. J. Pathol.* 154: 1125–1135

Schirmacher, P.; Geerts, A.; Pietrangelo, A.; Dienes, H. P.; Rogler, C. E. (1992): Hepatocyte GrowthFactor/Hepatopoietin A is Expressed in Fat-storing Cells from Rat Liver But Not Myofibroblast-like Cells Derived from Fat-storing Cells. *Hepatology* 15, 5–11

Schulte am Esch, J., 2nd; Knoefel, W.T.; Klein ; Ghodsizad, A.; Fuerst, G.; Poll, L.W.; Piechaczek, C.; Burchardt, E.R.; Feifel, N.; Stoldt, V.; Stockschlader, M.; Stoecklein, N.; Tustas, R.Y.; Eisenberger, C.F.; Peiper, M.; Haussinger, D.; Hosch, S.B. (2005): Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells*, 23(4): 463-70

Schwartz, R.E.; Reyes, M.; Koodie, L.; Jiang, Y.; Blackstad, M.; Lund, T.; Lenvik, T.; Johnson, S.; Hu, W.S.; Verfaillie, C.M. (2002): Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest.* 109(10): 1291-302

Selden, C.; Jones, M.; Wade, D.; Hodgson, H. (1990): Hepatotropin mRNA expression in human foetal liver development and in liver regeneration. *FEBS Lett.* 270,81–84

Shimizu, Y., Ashman, L.K., Du, Z., and Schwartz, L.B. (1996): Internalization of Kit together with stem cell factor on human fetal liver-derived mast cells: new protein and RNA synthesis are required for reappearance of Kit. *J. Immunol.* 156:3443–3449

Simpson, K.; Hogaboam, C.M.; Kunkel, S.L.; Harrison, D.J.; Bone-Larson, C.; Lukacs, N.W. (2003): Stem cell factor attenuates liver damage in a murine model of acetaminophen-induced hepatic injury. *Lab Invest.* 83(2):199-206

- Son, B.R.; Marquez-Curtis, L.A.; Kucia, M.; Wysoczynski, M.; Turner, A.R.; Ratajczak, J.; Ratajczak, M.Z.; Janowska-Wieczorek, A. (2006):** Migration of bone marrow and cord blood mesenchymal stem cells in vitro is regulated by stromal-derived factor-1-CXCR4 and hepatocyte growth factor-c-met axes and involves matrix metalloproteinases. *Stem Cells*. 24(5): p. 1254-64
- Sonnenberg, E.; Meyer, D.; Weidener, K. M.; Birchmeier, C. (1993):** Scatter Factor/Hepatocyte GrowthFactor and Its Receptor, the c-met Tyrosine Kinase, Can Mediate a Signal Exchange between Mesenchyme and Epithelia during Mouse Development. *J. Cell Biol.* 123, 223–235
- Springer, T.A. (1994):** Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 76: 301–314
- Stoker, M. (1989):** Effects of Scatter Factor on Motility of Epithelial Cells and Fibroblasts. *J. Cell. Physiol.* 139, 565–569
- Tachibana, K.; Hirota, S.; Iizasa, H. et al. (1998):** The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature* 393: 591–594
- Terada, N.; Hamazaki, T.; Oka, M.; Hoki, M.; Mastalerz, D.M.; Nakano, Y.; Meyer, E.M.; Morel, L.; Petersen, B.E.; Scott E.W.(2002):**Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*. 416(6880): 542-5
- Terada, R.; Yamamoto, K.; Hakoda, T.; Shimada,N.; Okano, N.; Baba, N.; Ninomiya, Y.; Gershwin, M.E.; Shiratori, Y. (2003):** Stromal cell-derived factor-1 from biliary epithelial cells recruits CXCR4-positive cells: implications for inflammatory liver diseases. *Lab Invest*. 83(5):665-72

- Theise, N.D.; Badve, S.; Saxena, R.; Henegariu, O.; Sell, S.; Crawford, J.M.; Krause D.S. (2000):** Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology*. 31(1): 235-40
- Tomiya, T.; Tani, M.; Yamada, S.; Hayashi, S.; Umeda, N.; Fujiwara, K. (1992):** Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology*. Nov;103(5):1621-4
- Uehara, Y.; Kitamura, N. (1992):** Expression of a human hepatocyte growth factor/scatter factor cDNA in MDCK epithelial cells influences cell morphology, motility, and anchorage-independent growth. *J Cell Biol*. 117:889–894
- Vauthey, J.N. (1998):** A surgeon's perspective. *Radiol. Clin. North Am*. 36 (2) 445-57
- Vassilopoulos, G.; Wang, P.R; Russell, D.W. (2003):** Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*. 422(6934): 901-4
- Vig, P.; Russo, F.P.; Edwards, R.J.; Tadrous, P.J.; Wright, N.A.; Thomas, H.C.; Alison, M.R.; Forbes, S.J. (2006):** The sources of parenchymal regeneration after chronic hepatocellular liver injury in mice. *Hepatology*. 43(2): 316-24
- Wake, K. (1971):** Sternzellen in the liver: perisinusoidal cells with special reference to storage of vitamin A. *Am. J. Anat*. 132, 429–462
- Wang, X.; Foster, M.; Al-Dhalimy, M.; Lagasse, E.; Finegold, M.; Grompe, M. (2003):** The origin and liver repopulating capacity of murine oval cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100 Suppl 1: 11881-8

- Wang, X.; Ge S.; McNamara, G., Hao, Q.L., Crooks, G.M., Nolta, J.A. (2003):** Albumin-expressing hepatocyte-like cells develop in the livers of immune-deficient mice that received transplants of highly purified human hematopoietic stem cells. *Blood*, 101(10): p. 4201-8
- Wang, X.; Willenbring, H.; Akkari, Y.; Torimaru, Y.; Foster, M.; Al-Dhalimy, M.; Lagasse, E.; Finegold, M.; Olson, S.; Grompe, M. (2003):** Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature*. 422(6934): 897-901
- Weidner, K. M.; Sachs, M.; Birchmeier, W. (1993):** The Met Receptor Tyrosine Kinase Transduces Motility, Proliferation, and Morphogenic Signals of Scatter Factor/Hepatocyte Growth Factor in Epithelial Cells. *J. Cell Biol.* 121, 145–154
- Yin, L.; Lynch, D.; Sell, S. (1999):** Participation of different cell types in the restitutive response of the rat liver to periportal injury induced by allyl alcohol. *J Hepatol*, 1999. 31(3): 497-507
- Zsebo, K.M.; et al. (1990):** Stem cell factor is encoded at the Sl locus of the mouse and is the ligand for the c-kit tyrosine kinase receptor. *Cell*. 63:213–224
- Zou, Y.R.; Kottmann, A.H.; Kuroda, M. et al. (1998):** Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 393: 595–599

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Bochum, 13.05.2014

Adrian ben Anwar El-Karmi