

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

**Mobilisation der peripheren CD133⁺ - bzw. CD34⁺ -
Knochenmark-Stammzellen nach Leberresektion und
deren Korrelation mit Ausmaß der Leberresektion,
Leberfunktion sowie Höhe und Kinetik der Zytokine im
peripheren Blut.**

Dissertation

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

vorgelegt von
Marina Wildner

(2016)

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

gez.

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

Erstgutachter: Prof. Dr. Schulte am Esch

Zweitgutachter: PD Dr. Graf

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht

Lehwald N, Duhme C, **Wildner M**, Kuhn S, Fürst G, Forbes SJ, Jonas S, Robson SC, Knoefel WT, Schmelzle M, Schulte Am Esch J. (2014) HGF and SDF-1-mediated mobilization of CD133+ BMSC for hepatic regeneration following extensive liver resection. *Liver Int.* 2014 Jan;34(1):89-101

Schmelzle M, Duhme C, Junger W, Salhanick SD, Chen Y, Wu Y, Toxavidis V, Csizmadia E, Han L, Bian S, Fürst G, Nowak M, Karp SJ, Knoefel WT, Schulte Esch J, Robson SC. CD39 modulates hematopoietic stem cell recruitment and promotes liver regeneration in mice and humans after partial hepatectomy. *Ann Surg.* 2013 Apr;257(4):693-701

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung	EPO	Erythropoetin
and.	andere	evtl.	eventuell
AP	alkalische Phosphatase	FACS	engl.: fluorescence activated cell sorting
APC	Allophycocyanin	FGF-4	engl.: Fibroblast growth factor 4
Aqua dest.	destilliertes Wasser	FITC	Fluorescein-5- isothiocyanat
BMMC	engl.: bone marrow mononuclear cells	FSC	engl.: forward scatter
bzw.	beziehungsweise	g	Gramm
°C	Grad Celsius	γ-GT	Gamma-Glutamyl- Trasferase
Ca	Carcinoma	GM-CSF	engl.: Granulocyte macrophage colony- stimulating factor
Ca²⁺	Kalzium	GOT	Glutamat-Oxalacetat Transaminase
ca.	circa	GPT	Glutamat-Pyruvat- Transaminase
CCC	cholangiozelluläres Karzinom	G-SCF	engl.: Granulocyte- colony stimulating factor
CD	Cluster of differentiation	h	engl.: hour
CD34 APC	APC anti human CD34, Becton Dickinson	Hb	Hämoglobin
CD45 FITC	FITC anti human CD45, Becton Dickinson	HCC	hepatozelluläres Karzinom
CD133 PE	CD133/2-PE (293C3) antibodies human, Miltenyi Biotec	HGF	engl.: Hepatocyte Growth Factor
CRP	C-reaktives Protein	Hkt	Hämatokrit
CSF	colony stimulating factor	Hosp.	Hospitalisation
CT	Computertomographie	HSC	engl.: hematopoietic stem cell
d	engl.: day	ICG	Indocyaningrün
d.h.	das heißt	IGF	engl.: Insulin-like growth factor
dl	Deziliter		
DPBS	engl.: Dulbeccos's Phosphate Buffered Saline		
EDTA	Ethylendiamintetraacetat		
EGF	Epidermal growth factor		
ELISA	engl.: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay		

IgG	Immunglobulin G	INR	International Normalized
IL-8	Interleukin-8		Ratio
ISO-34 APC	APC Mouse IgG1 κ isotype control, Becton Dickinson	PDR	engl.: plasma disappearance rate
ISO-133 PE	Mouse IgG2b-PE isotype control antibodies, Miltenyi Biotec	PE	Phycoerythrin
		PerCP	Peridin Chlorophyll protein
K⁺	Kalium	pg	Pikogramm
kg	kilogramm	PTT	engl.: Partial Thromboplastin Time
KG	Körpergewicht	R15	Retentionsrate nach 15 Minuten
li	links	re	rechts
m	männlich	SCF	engl.: Stem cell factor
M	Metastase	SDF-1	engl.: stromal cell- derived factor
mg	Milligramm	sec	Sekunde
min	Minute	SSC	engl.: sideward scatter
μl	Mikroliter	SZ	Stammzellen
ml	Milliliter	TLV	totales Lebervolumen
n	Anzahl	Tu	Tumor
Na⁺	Natrium	u.a.	unter anderem
nm	Nanometer	U/min	Umdrehungen pro Minute
Nr	Nummer	v.a.	vor allem
NSCLC	engl.: non small cell lung cancer	w	weiblich
OP	Operation		
Pat.	Patient		

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Nomenklatur der Leberresektion.	2
Abbildung 2: Emissionsspektren einzelner Fluorochrome.....	21
Abbildung 3: Entstehung von SSC und FSC im FACS.....	21
Abbildung 4: Exemplarische Darstellung einer durchflusszytometrischen Messung am Tag 21	27
Abbildung 5: Konzentration von CD45 ⁺ /CD34 ⁺ -Stammzellen in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion.....	29
Abbildung 6: Konzentration von CD45 ⁺ /CD133 ⁺ -Stammzellen in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion.....	30
Abbildung 7: HGF-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit	33
Abbildung 8: SDF-1-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit	34
Abbildung 9: SCF-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit.....	35
Abbildung 10: IGF-1-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit.....	36
Abbildung 11: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 0 und CD34 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 1.....	38
Abbildung 12: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 6h und CD34 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 1.....	39
Abbildung 13: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD34 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.....	40
Abbildung 14: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 6h und CD34 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.....	40
Abbildung 15: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD133 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.....	41
Abbildung 16: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 6h und CD133 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.....	42
Abbildung 17: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 24h und CD133 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.....	43
Abbildung 18: Korrelation zwischen SDF-1-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD133 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 4.....	44
Abbildung 19: Korrelation zwischen SDF-1-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD133 ⁺ -Stammzell-Ausschüttung am Tag 21.....	45
Abbildung 20: Leukozytenzahl in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion...	46

Abbildung 21: Hämoglobinwerte in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	47
Abbildung 22: Hämatokritwerte in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	. 48
Abbildung 23: Thrombozytenzahl in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	49
Abbildung 24: INR-Werte in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion.....	50
Abbildung 25: Fibrinogenkonzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	52
Abbildung 26: Partielle Thromboplastinzeit in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	53
Abbildung 27: Bilirubinkonzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	55
Abbildung 28: GOT-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	56
Abbildung 29: GPT-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	57
Abbildung 30: γ -GT-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	58
Abbildung 31: AP-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	59
Abbildung 32: Na^+ -Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	60
Abbildung 33: K^+ -Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	61
Abbildung 34: Ca^{2+} -Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	62
Abbildung 35: CRP-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	63
Abbildung 36: Albumin-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion	64
Abbildung 37: PDR in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion.....	66

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
1.1	Leberresektion	1
1.2	Leberregeneration	3
1.2.1	Mechanismen der Leberregeneration	5
1.2.1.1	Leberregeneration durch Hepatozytenproliferation	6
1.2.1.2	Ovalzellen und Leberregeneration	6
1.2.1.3	Rolle der hämatopoetischen Stammzellen in der Leberregeneration	7
1.2.2	Stammzellen	8
1.2.3	Zytokine	9
1.2.3.1	Hepatocyte growth factor	10
1.2.3.2	Stromal cell-derived factor 1	10
1.2.3.3	Stem cell factor	11
1.2.3.4	Insulin-like growth factor 1	11
1.2.4	Leberfunktion	11
1.3	Ziele der Arbeit	13
2	MATERIAL UND METHODEN	14
2.1	Kurzbeschreibung der Studie	14
2.2	Patientencharakterisierung	15
2.3	Material	18
2.4	Methoden	19
2.4.1	Blutprobenentnahme	19
2.4.2	Durchflusszytometrie	20
2.4.3	Prinzip der Probenaufarbeitung	22
2.4.4	ICG-Verschwinderate	23
2.4.5	Blutwerte	23
2.4.6	Computertomographie	24
2.4.7	ELISA	24
2.4.8	Statistik	25

3	ERGEBNISSE	26
3.1	Stammzellen und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion	26
3.1.1	CD45 ⁺ /CD34 ⁺ Stammzellen.....	28
3.1.2	CD45 ⁺ /CD133 ⁺ -Stammzellen.....	29
3.2	Zytokine und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion.....	31
3.2.1	Hepatocyte growth factor.....	31
3.2.2	Stromal cell-derived factor 1	33
3.2.3	Stem cell factor.....	34
3.2.4	Insulin-like growth factor 1	35
3.3	Korrelation von Zytokinen mit der Stammzellmobilisation nach Leberresektion.....	37
3.3.1	Korrelation von HGF-Konzentration im Blut und CD34 ⁺ -Stammzellen	37
3.3.2	Korrelation von HGF-Konzentration im Blut und CD133 ⁺ -Stammzellen	41
3.3.3	Korrelation von SDF-1-Konzentration im Blut und CD133 ⁺ -Stammzellen.....	43
3.4	Blutwerte und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion....	45
3.4.1	EDTA	45
3.4.2	Gerinnungsparameter.....	49
3.4.3	Marker der hepatischen Funktion und der hepatozellulären Schädigung	53
3.4.4	Elektrolyte	59
3.4.5	C-reaktives Protein.....	62
3.4.6	Albumin	63
3.5	Plasmaverschwinderate von ICG und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion.....	65
4	DISKUSSION	67
5	ZUSAMMENFASSUNG	78
6	LITERATURVERZEICHNIS	80

1 Einleitung

1.1 Leberresektion

Die häufigste Indikation für elektive Leberresektionen stellen fokale solitäre Läsionen, meist bei nachgewiesener maligner oder unklarer Dignität, dar.

Bei den primär in der Leber entstehenden Tumoren unterscheidet man zwischen benignen und malignen Tumoren. Eine kleinere Anzahl an Resektionen erfolgt aufgrund gutartiger Erkrankungen, wie zum Beispiel Leberadenome, Leberhämangiome und Leberechinococcuserkrankungen. Bei den primären Lebermalignomen bilden die hepatozellulären Karzinome mit ca. 70-90% den größten Anteil neben den cholangiozellulären Karzinomen (10%) und seltenen Tumoren wie Hepatoblastom und Lebersarkom (1).

Die häufigste Form von Lebertumoren sind jedoch Lebermetastasen, also sekundäre Absiedelungen von bösartigen extrahepatisch entstandenen Tumoren, überwiegend im Zustromgebiet der Pfortader (Kolon, Rektum, Magen, Pankreas, Ösophagus). Ziel einer onkologisch sinnvollen Leberresektion ist die vollständige Entfernung des Tumors (R0-Resektion). Die Anzahl der Herde oder die Größe des Tumors spielen primär keine Rolle solange das Malignom vollständig entfernt werden kann und der Patient noch eine ausreichende funktionelle Restleber besitzt (2). Die Zahl der jährlich auftretenden Neuerkrankungen an Krebs in Deutschland wird auf ca. 252.390 Erkrankungen bei Männern und auf ca. 224.910 bei Frauen geschätzt (3). Etwa 50% aller onkologischen Patienten entwickeln im Verlauf ihrer Erkrankung Lebermetastasen (4).

Metastasen kolorektaler Karzinome werden als gute Indikation zur Resektion angesehen. Mehrere Studien zeigten eine Mortalitätssenkung bei kurativer Resektion der Lebermetastasen von 30% auf deutlich unter 3% (2). Die Ergebnisse bei Rezidiven von kolorektalen Lebermetastasen sind mit denen von primären Eingriffen vergleichbar (5). Die Techniken der resezierenden Leberchirurgie haben in den letzten zwanzig Jahren bedeutsame Innovationen erfahren, z.B. ist es technisch möglich geworden ausgedehntere Resektionen durchzuführen. Zentral ist dabei aber das Verständnis der regenerativen

Prozesse in der Leber nach Resektion, um die chirurgischen Verfahren weiter zu verfeinern, die Mortalität zu senken, das Outcome des Patienten zu verbessern und evtl. neue Therapiemöglichkeiten entwickeln zu können.

Die anatomische Leberresektion erfolgt entsprechend der Segmentanatomie nach Couinaud und der funktionellen Trennungslinie nach J.Cantilie (Abb.1), die entlang einer fiktiven Linie von der Gallenblase bis zur Vena cava inferior verläuft und die Leber in zwei funktionelle Hälften teilt.

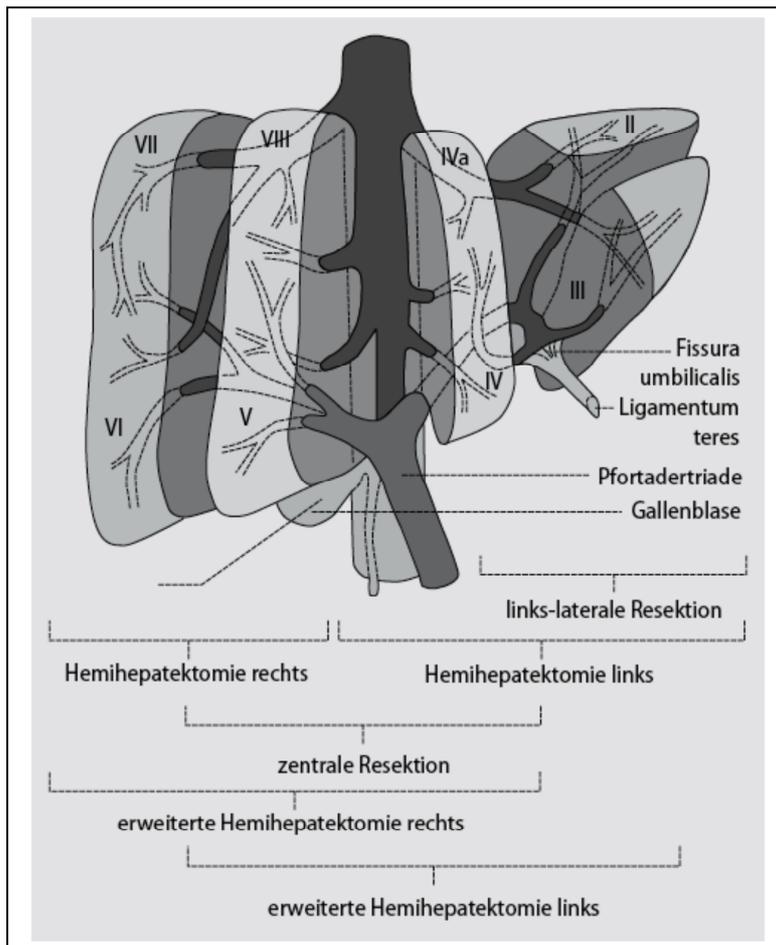


Abbildung 1: Nomenklatur der Leberresektion (6).

Erfolgt die Resektion abweichend von der vorgegebenen Leberanatomie, spricht man von einer atypischen Leberresektion. Diese ermöglicht eine weitere Individualisierung der Resektion mit dem Ziel einen geringeren Parenchymverlust zu erzielen, als bei einer streng anatomisch durchgeführten Hepatektomie.

Die Lebersegmentgröße ist individuell variabel und dementsprechend ist der prozentuelle Parenchymverlust während der Operation individuell

unterschiedlich. Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Studie bei den Patienten vor der Operation und am ersten postoperativen Tag eine Computertomographie (CT) durchgeführt und der Anteil des resezierten Lebergewebes CT-volumetrisch ermittelt.

Eine zu ausgedehnte Leberteileresektion, die eine ungenügende Menge an funktionellem Restparenchym zur Verfügung lässt, ist mit einer signifikant erhöhten Rate an postoperativem Leberversagen und Mortalität verbunden (7-10). Wenn eine Leberresektion bevorsteht, ist es von großem Interesse, die präoperative Leberfunktion zu kennen, um die Funktion der Restleber vorab einschätzen zu können. Verschiedene Blutserumparameter, Blutgerinnungsanalysen und zahlreiche Testverfahren, wie z.B. die ICG-Messung (11), erlauben eine grobe Einschätzung der Leberfunktion, sowohl präoperativ als auch im postoperativen Verlauf.

Wird jedoch festgestellt, dass der evtl. postoperativ verbleibende Leberanteil die Funktion nicht aufrechterhalten könnte, kann vor der Resektion eine portalvenöse Embolisation durchgeführt werden, um eine Atrophie im tumortragenden und eine Hypertrophie im verbleibenden Leberteile zu erreichen (12). Im Zeitintervall zwischen der Embolisation und der Leberteileresektion nimmt das Volumen der Leber zu und erreicht schließlich die notwendige Größe, um die Leberresektion durchführen zu können. Da die portalvenöse Embolisation allein häufig nicht ausreicht, um rechtzeitig ausreichendes Volumen (z.B. in Segmenten II/III) zu erzielen, sind andere Maßnahmen notwendig, beispielsweise eine portalvenöse Stammzellapplikation, um so die notwendige Volumenzunahme in den verbleibenden Segmenten zu erreichen. Um das Verfahren weiter optimieren zu können, ist das Verständnis für die Rolle der Stammzellen für die Leberregeneration unerlässlich.

1.2 Leberregeneration

Die Leber ist das größte parenchymatöse Organ des Menschen, dessen Funktion erst im letzten Jahrhundert genauer erforscht und erkannt wurde. Die Leber ist u.a. für den Stoffwechsel nach Nahrungsaufnahme zuständig. Sie hält

den Blutglukosespiegel durch Synthese und Speicherung von Glykogen konstant und ist maßgeblich an Entgiftungsvorgängen beteiligt. Sie baut alte und geschädigte Erythrozyten sowie Ammoniak zu Harnstoff ab und verstoffwechselt Steroidhormone und Medikamente. Sie ist die größte Drüse des menschlichen Körpers und sezerniert Gallenflüssigkeit. Die Leber speichert und gibt Lipoproteine, Vitamine, Aminosäuren, Glykogen wieder an den Organismus ab. Sie ist durch die Produktion von Bestandteilen des Gerinnungssystems an der Blutgerinnung beteiligt und bis zum siebten Schwangerschaftsmonat ist sie ein blutbildendes Organ des Fetus. Durch die Synthese von Proteinen wie Albumin und anderen Globulinen ist die Leber an der Homöostase und der Kreislaufregulation beteiligt. In ein weiteres lebenswichtiges Geschehen, die Akute-Phase-Reaktion, greift sie durch die Bildung des C-reaktiven Proteins (CRP) ein. Somit stellt die Funktion der Leber einen essentiellen, lebenswichtigen Parameter für den menschlichen Körper dar (13).

Die Leberregeneration wird als eine Reaktion des Körpers auf eine chemische, toxische oder traumatische Schädigung von Lebergewebe bezeichnet (14). Erste Hinweise auf die Regeneration der Leber findet man in der griechischen Mythologie. Nach Berichten von Hesoid (8.Jh.v.Chr.) wurde Prometheus von Zeus bestraft, weil er das Feuer von Olymp gestohlen hatte. Er wurde an einen Felsen gekettet und ein Adler fraß jeden Tag von seiner Leber, die dann nachwuchs. Bis heute wird diese enorme Regenerationsfähigkeit der Leber Prometheus-Effekt genannt. Klinische Beobachtungen bei Menschen zeigen, dass nach einer Hemihepatektomie die ursprüngliche Organmasse in 6-12 Monaten wiederhergestellt ist (15). Das Wort Regeneration ist in diesem Fall irreführend, da vorbestehende anatomische Formen (Leberlappen) nicht nachwachsen ähnlich der Regeneration von Extremitäten bei Amphibien. Es kommt vielmehr durch hyperplastische und hypertrophische Vorgänge zur Wiederherstellung der Ursprungsgröße (15). Der Leberregeneration liegt ein komplexes Zusammenspiel von Hepatozyten und Nicht-Parenchymzellen der Leber zugrunde, reguliert durch eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren.

In der onkologischen Leberchirurgie ist die Erforschung der Leberregeneration von großer Bedeutung, um die physiologischen Grenzen des Resektionsausmaßes zu verstehen und gegebenenfalls ausweiten zu können. Die Regenerationsleistung des Lebergewebes könnte evtl. durch Anregung

bestimmter leberspezifischer Mechanismen verbessert werden (16-19). Gleichzeitig wird die Regeneration erforscht, um neue Ansätze für den Ersatz ausgefallener Leberfunktionen zu entwickeln, wie Organersatzverfahren für Patienten mit akutem Leberversagen oder Leberausfallkoma. Diese umfassen unter anderem isolierte oder kultivierte Hepatozyten. Die Erforschung regenerativer Prozesse auf molekularbiologischer Ebene stellt außerdem die Basis für das Verständnis zahlreicher Lebererkrankungen (z.B. akute Leberschädigung) und für Verbesserungen deren Therapie dar.

1.2.1 Mechanismen der Leberregeneration

Der Mensch besitzt mit der Leber das einzige parenchymatöse Organ, das nach unterschiedlichen Schädigungen die Fähigkeit zur kompletten Wiederherstellung der Größe und Funktion besitzt (20). Heutzutage weiß man, dass dieser Regenerationsprozeß mit Änderungen der hepatischen Struktur, Genexpression, Konzentration an Zytokinen, Wachstumsfaktoren und Hormonen einhergeht (21-23). Doch die genauen Zusammenhänge sind nach wie vor Thema laufender Forschungen. Die Regeneration betrifft alle Zellen der Leber, also nicht nur die Hepatozyten. Es finden vielmehr Zellteilungsprozesse im gesamten Parenchym statt. Nach Abschluss der Regenerationsvorgänge ist die normale Architektur der Leber in den neu gebildeten Arealen weitgehend wiederhergestellt, d.h. anders als in den anderen Geweben des Körpers, erfolgt hier die Regeneration ohne Narbenbildung.

Studien an Tieren und Menschen konnten zeigen, dass sich das Ausmaß der regenerativen Prozesse proportional zum Umfang der Resektion verhält. So kommt es zur Größenabnahme des Organs, wenn die Leber eines größeren Spenders in den Körper eines kleineren Empfängers transplantiert wird (24, 25). Umgekehrt zeigt sich nach Transplantation eines relativ zum Körpergewicht kleineren Transplantates ein kompensatorisches Leberwachstum, so dass die Leber innerhalb 1 Woche die Ursprungsgröße der originalen Leber erreicht (26). Dies belegt, dass die Lebergröße durch endogene Signale reguliert wird.

1.2.1.1 Leberregeneration durch Hepatozytenproliferation

Obwohl reife Hepatozyten langlebig sind (ca. 12 Monate) und kaum einer Zellteilung unterliegen, haben sie die Möglichkeit zur Proliferation. Beim gesunden Erwachsenen wird der Untergang von Leberzellen durch permanente Proliferation verbliebener reifer Hepatozyten kompensiert und somit eine gleich bleibende Leberzellmasse sichergestellt (27, 28).

1.2.1.2 Ovalzellen und Leberregeneration

Bei einem massiven Zelluntergang, wie z.B. nach einer Leberresektion, spielen neben Hepatozyten auch eine Repopulation durch ausdifferenzierte Vorläuferzellen eine Rolle (21). Intrahepatische Stammzellen bzw. Ovalzellen als ihre Vorläufer bilden einen weiteren Proliferationspool, der dann eine Rolle spielt, wenn die Hepatozyten durch zu starke Schädigung, z.B. bei chronischen Lebererkrankungen, oder zu großen Zellverlusten, wie bei einer Leberresektion, nicht zur Proliferation in der Lage sind (21, 29). Ovalzellen sind kleine, einkernige Zellen, die sich sowohl in Hepatozyten als auch in Epithelzellen der Gallengänge differenzieren können (30, 31). Sie sind in der adulten Leber in den Hering-Kanälen lokalisiert (32). Außerdem exprimieren sie die gleichen Oberflächenmarker wie hämatopoetische Stammzellen (z.B. c-kit, CD34, Thy-1, CD45) (33, 34). Eine mögliche Erklärung liegt in der engen Verbindung beider Organe (Knochenmark und Leber), die bereits zum Zeitpunkt der Fetalentwicklung besteht. Sehr früh wandern hämatopoetische Stammzellen aus dem Dottersack in die sich entwickelnde Leber, in der dann die Blutbildung bis nach der Geburt erfolgt (35).

Interessanterweise lässt sich die Proliferation von Ovalzellen durch die Gabe von G-SCF fördern (36). Rountree et al. identifizierten eine Population von Ovalzellen der Leber, die für den hämatopoetischen Stammzellmarker CD133 positiv sind und mit ihrem Genprofil und ihrer Funktion den Leber-Stammzellen entsprechen (37). Die Ergebnisse von Wang et al. zeigten allerdings, dass Ovalzellen nicht aus dem Knochenmark stammen, sondern einen rein intrahepatischen Ursprung aufweisen (38).

1.2.1.3 Rolle der hämatopoetischen Stammzellen in der Leberregeneration

Es gibt Hinweise, dass eine Leberregeneration auch durch Transdifferenzierung von Knochenmark-Stammzellen in Hepatozyten erfolgt (39-43). Verschiedene Studien zeigen, dass transplantierte Knochenmark-Stammzellen zur Leber gelangen und dort Hepatozyten und Gallengangszellen zum Wachstum und zur Zellteilung anregen können (34, 39, 44-46). Ergebnisse von Fürst et al. und Schulte am Esch et al. verdeutlichen, dass die Knochenmark-Stammzellen an der Leberregeneration beteiligt sein können und klinische Anwendung finden (16, 18). De Silvestro et al. haben gezeigt, dass die CD34⁺-Stammzellen möglicherweise an der Leberregeneration nach der Resektion beteiligt sind. Dabei wurde bei onkologischen Patienten, die zusätzlich zur Resektion des Primärtumors eine Leberresektion erhielten, eine 10fach höhere Konzentration der peripher mobilisierten CD34⁺-Stammzellen beobachtet (47).

Hämatopoetische Stammzellen sind durch Expression bestimmter, für sie typischer, Oberflächenmarker charakterisiert (z.B. CD34, CD133) und werden bei Leberparenchymverlusten mobilisiert. De Silvestro et al. und Gehling et al. beschrieben einen signifikanten Anstieg der im peripheren Blut zirkulierenden hämatopoetischen Stammzellen (HSC) nach einer Leberresektion (47, 48). Liu et al. zeigten, dass G-CSF die Überlebensraten und die Leberregeneration in Ratten nach einer partiellen orthotopen Lebertransplantation verbessert, vermittelt durch den Anstieg von HSC im Blut (49). Die Ergebnisse von Spahr et al. belegen ebenfalls, dass G-CSF die HSC-Mobilisation fördert und mit einem Anstieg von HGF einhergeht. HGF wiederum bewirkt eine Proliferation von hepatischen Progenitorzellen (50).

Andere Autoren sprechen von der Umwandlung der Knochenmark-Stammzellen in Leberzellen mittels Zellfusion (51, 52). Erste Beobachtungen zur Fusionstheorie stammen von Zellkulturversuchen, in denen die spontane Vereinigung von hämatopoetischen Zellen mit embryonalen Stammzellen beobachtet wurde (53). Mit verschiedenen Modellen konnte das Fusionsphänomen zur Entstehung von Leberzellen analysiert werden (51, 52, 54, 55). Es ist noch unklar welche von den beiden Hypothesen am ehesten der Realität entspricht, oder ob beide Prozesse evtl. gleichzeitig stattfinden. Es stellt sich aber die Frage, wie die Knochenmark-Stammzellen ihr Ziel finden und

welche Faktoren ihre Ausschüttung bewirken, um die Leberregeneration in Gang zu setzen.

1.2.2 Stammzellen

Eine Stammzelle wird durch biologische Funktionen wie Proliferation, Selbsterneuerung und Differenzierung definiert. Exogene Signale bewirken, dass eine ruhende, noch undifferenzierte Stammzelle in die Mitose übergeht. Es findet eine asymmetrische Zellteilung statt, eine Tochterzelle ersetzt die Stammzelle, die andere differenziert sich in eine spezialisierte, in ihrer Funktion festgelegte Progenitorzelle. Diese wiederum kann zu ausdifferenzierten Zellen proliferieren (56).

Die bis heute am ausgiebigsten und besten erforschten Stammzellen sind zweifelsohne die hämatopoetischen Stammzellen. Im Knochenmark sind sie in einer Menge von etwa 0,01% nachweisbar. Experimentell wurde gezeigt, dass die Knochenmark-Stammzellen durch Mobilisierung und Einnistung (Homing) auch an der Leberzellproliferation nach Resektion beteiligt sind (55). Humane hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen exprimieren an ihrer Oberfläche das Antigen CD34. Über die genaue Funktion von CD34 ist noch wenig bekannt. Sowohl Hinweise für eine Funktion als Regulator der Zelladhäsion als auch bei der Differenzierung von hämatopoetischen Stammzellen wurden beschrieben (57, 58). CD34 ist jedoch kein selektiver Stammzellmarker, sondern ist auch auf der Zelloberfläche von reifen Endothelzellen (59) oder embryonalen Fibroblasten (60) zu finden. Dies legt die Vermutung nahe, dass diese Zellen möglicherweise auf eine gemeinsame mesenchymale Stammzelle zurückgehen.

Somit muss zur weiteren Charakterisierung der hämatopoetische Leukozytenmarker CD45 miteinbezogen werden.

Zur weiteren Charakterisierung der ins periphere Blut mobilisierten Stammzellen wird der Stammzellmarker CD133 benutzt. Er wurde Ende der 90er Jahre von Yin et al. identifiziert (61) und als ein früher Marker von hämatopoetischen Stammzellen aus dem adulten Knochenmark, der fetalen Leber und dem zirkulierenden Blut diskutiert. Inzwischen ist bekannt, dass verschiedene Isoformen von CD133 existieren und, dass die Isoform-2 in

verschieden adulten Geweben, u.a. der Leber exprimiert wird (62). Die Mehrheit der CD133⁺ positiven Zellen weisen auf ihrer Oberfläche auch das CD34-Antigen auf, wohingegen die CD133⁺/CD34⁻ Zellen die frühen pluripotenten Stammzellen repräsentieren und somit als Vorläufer der CD133⁺/CD34⁺ hämatopoetischen Stammzellen gelten können (61, 63).

Nakamura et al. zeigten, dass CD133⁺-Knochenmark-Stammzellen, die als endotheliale Progenitor-Zellen gelten, die Fibrosierung der Leber vermindern und somit die Leberregeneration fördern können (64).

Gehling et al. berichteten von den Ergebnissen einer klinischen Studie, an der 11 Lebendspender teilgenommen haben. Es wurde ein signifikanter Anstieg von CD133⁺-Zellen bei allen Patienten nach einer Leberresektion beobachtet. Nur bei einigen Patienten kam es zu einem Anstieg von CD34⁺-Zellen (48). Im Vergleich dazu wiesen die 12 Patienten, die sich einem abdominalen Eingriff ohne Hepatektomie unterzogen, keinen Anstieg von CD133⁺- oder CD34⁺-Zellen auf. Außerdem zeigten Gehling et al., dass in Anwesenheit von SCF, HGF und FGF-4 sich die kultivierten CD133⁺-Zellen in vitro in Hepatozyten umwandeln können (48).

CD133⁺-Stammzellen werden therapeutisch genutzt, um zerstörtes Gewebe zu ersetzen und eine Organregeneration zu fördern. Sie werden z.B. in das Myokard appliziert, um eine Myokardregeneration nach einem Myokardinfarkt zu erreichen (65-67). Vergleichbar dazu machten Schulte am Esch et al. erste klinische Erfahrungen mit einem neuen Konzept zur Förderung der Leberregeneration bei 8 Patienten mit der Indikation zur erweiterten Hemihepatektomie rechts. Nachdem zusätzlich zur portal-venösen Embolisation des rechten Leberlappens CD133⁺-Knochenmark-Stammzellen appliziert wurden, wurde eine 2,5-fach höhere Proliferationsrate der links-lateralen Lebersegmente beobachtet (16, 18). Dies bestätigt die Annahme, dass die CD133⁺-Zellen die Leberregeneration fördern.

1.2.3 Zytokine

Über die Faktoren, die nach einer Leberresektion ausgeschüttet werden und an der Stammzellmobilisation und deren Differenzierung sowie Homing zur Leber beteiligt sind, ist nur wenig bekannt.

Wie mehrere Studien zeigen, wird die Leberregeneration durch eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren stimuliert, die überwiegend im portalen Blut vorhanden sind. Es ist bekannt, dass die geschädigte Leber u.a. Zytokine wie SDF-1, SCF, HGF und IL-8 ausschüttet. Darüber hinaus gibt es Hinweise darauf, dass sie am Homing der Stammzellen aus den extrahepatischen Quellen zur Leber beteiligt sind (22, 68-70).

1.2.3.1 Hepatocyte growth factor

Der hepatocyte growth factor (HGF) ist der wohl bekannteste und wichtigste Wachstumsfaktor im Rahmen der Leberregeneration und wurde erstmalig aus dem Serum eines Patienten mit fulminantem Leberversagen isoliert und charakterisiert (71). HGF wird nicht nur von Hepatozyten, sondern auch von Itozellen und mesenchymalen Zellen gebildet. Es ist das potenteste Hepatozytenmitogen und wirkt auch auf zahlreiche andere Zelltypen proliferationsfördernd.

Nach der Leberresektion steigt die Menge an HGF an und ist direkt mit dem Homing der CD34⁺-Stammzellen assoziiert (70, 72). In Ratten steigt HGF etwa 1h nach partieller Hepatektomie bis auf das zwanzigfache der Norm an und fällt nach 72h wieder auf Normalwerte ab (73). Ähnliche Ergebnisse wurden auch beim Menschen nach Leberresektion beobachtet (22, 74).

1.2.3.2 Stromal cell-derived factor 1

Der stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) wird in hoher Konzentration im Knochenmark produziert und dient der Rekrutierung und Verankerung von hämatopoetischen Stammzellen. SDF-1 wird außerdem von weiteren Organen, wie Lunge, Milz und Leber, freigesetzt.

SDF-1 wird eine wichtige Rolle bei der Mobilisation der im peripheren Blut nachgewiesenen CD34⁺-Vorläuferzellen zugeschrieben (70). Es wurde auch gezeigt, dass eine Leberresektion zum Anstieg von SDF-1 führt. Dieser lockt die CD133⁺-Knochenmark-Stammzellen an, die positiv für den SDF-1-Rezeptor sind. Die CD133⁺-Knochenmark-Stammzellen folgen dem SDF-1-Gradienten, werden ins periphere Blut mobilisiert und beteiligen sich an der

Leberregeneration (75). Krieg et al. konnten allerdings keine wesentliche Rolle des SDF-1 bei der Leberregeneration zeigen (22).

1.2.3.3 Stem cell factor

Der stem cell factor (SCF) ist ebenfalls an der Mobilisation und Migration der Stammzellen aus dem Knochenmark und somit an der Leberregeneration nach der Resektion beteiligt (22, 70). SCF ist als ein Ligand für seinen Rezeptor c-kit bekannt, der die Leberzellproliferation fördert. Krieg et al. zeigten einen Anstieg von SCF im peripheren Blut nach Leberresektion abhängig vom Ausmaß der Resektion (22). Auch Baccarani et al. beschrieben einen signifikanten Anstieg von SCF nach einer Leberresektion in der frühen postoperativen Phase (76).

1.2.3.4 Insulin-like growth factor 1

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) ist Teil eines komplexen Systems, das oft IGF-Achse genannt wird, und das Körperzellen nutzen, um mit ihrer Umgebung zu kommunizieren. Er ist ein Wachstumsfaktor, der eine hohe Sequenzähnlichkeit mit Insulin aufweist.

Während die normale Leber keine IGF-Rezeptoren exprimiert, scheint dies in der regenerierenden Leber anders zu sein. Einige Autoren beschrieben einen Anstieg von IGF-1 nach Leberresektion (77, 78) und vermuten daher eine regenerationsfördernde Wirkung von IGF.

1.2.4 Leberfunktion

Es ist allerdings nicht ausreichend, dass das Volumen der Leber nach einer Resektion zunimmt. Viel wichtiger ist die Wiederherstellung einer normalen Funktion. Mit einem dynamischen Leberfunktionstest kann die Fähigkeit der Leber getestet werden, bestimmte Stoffe zu metabolisieren und/oder auszuscheiden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Leberfunktion mit Hilfe von LiMON (ICG-PULSION, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland) bestimmt und quantifiziert. Die regelmäßige Kontrolle der etablierten Blutserumparameter und Blutgerinnungsanalysen vervollständigten

den Funktionstest und erlaubten eine Einschätzung der Syntheseleistung der Leber.

1.3 Ziele der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurde im Verlauf der klinischen Leberresektion die periphere Zytokinexpression und die Mobilisation CD133⁺/CD34⁺-Stammzellen im peripheren Blut mit dem Ausmaß der Leberresektion, der Leberfunktion und der Leberproliferation nach Resektion korreliert.

Folgendes wurde im Rahmen dieser Dissertationsarbeit untersucht:

- Kinetik der peripher mobilisierten Knochenmark-Stammzellen und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion
- Kinetik der Zytokine wie HGF, SDF-1, SCF und IGF-1, abhängig vom Ausmaß der Leberresektion, und deren Korrelation mit der Mobilisation der Knochenmark-Stammzellen und dem Ausmaß der Leberresektion
- Postoperative Veränderungen der Leberfunktion abhängig vom Ausmaß der Leberresektion, gemessen an gängigen Laborparametern sowie mit Hilfe von LiMON
- Zeitspanne bis zu einer Wiedererstellung einer normalen Leberfunktion im Rahmen der Leberregeneration.

Diese Untersuchungen sollen zum Verständnis und zur Verbesserung eines Behandlungskonzeptes mit CD133⁺-Knochenmark-Stammzellen zur Förderung der Leberregeneration beitragen. Über die chirurgische Therapie von onkologischen Patienten mit Indikation zur ausgedehnten Leberteileresektion hinaus könnten die Erkenntnisse aus dieser Studie potentiell auch Einfluss auf die therapeutische Förderung der Organregeneration nach anderen Szenarien akuter und chronischer Leberschädigung haben.

2 Material und Methoden

2.1 Kurzbeschreibung der Studie

In diese prospektive Studie wurden 30 Patienten mit primärem oder sekundärem Neoplasma der Leber zur Hepatektomie mit Resektionsraten von 0 bis 65% eingeschlossen. Das exakte Ausmaß der Leberresektion wurde als prozentuale Änderung zwischen prä- und unmittelbar postoperativem totalem Lebervolumen mittels computertomographischer Volumetrie erhoben. Daten der Gruppe A mit einem resezierten Leberanteil von < 20% (n = 20) wurden der Gruppe B mit 30 bis 65% Resektionsvolumen (n = 10) gegenübergestellt. Mit Hilfe von CT-Volumetrie

wurde postoperativ das Leberwachstum beurteilt. Durchflusszytometrisch wurde das Aufkommen an CD45⁺/133⁺ und CD45⁺/34⁺ Zellen im peripheren Blut aus beiden Gruppen miteinander verglichen. Die Durchflusszytometrie-Daten repräsentieren die prozentuale Änderung des Zellaufkommens in Beziehung zum Zeitpunkt 0 (unmittelbar nach Beendigung der Resektionsphase). Außerdem wurden an bestimmten Zeitpunkten folgende Parameter aus Vollblut bestimmt: kleines Blutbild, Natrium, Kalium, Kalzium, INR, Fibrinogen, PTT, Bilirubin, GOT, GPT, γ -GT, alkalische Phosphatase, CRP, Albumin. Zu einem späteren Zeitpunkt wurden mittels ELISA die Stammzell-Lockstoffe SCF, SDF-1, IGF und HGF aus den eingefrorenen Proben bestimmt. In regelmäßigen Abständen erfolgte die Leberfunktionsprüfung mit Hilfe von LiMON (ICG-PULSION®, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland). Die genauen Zeitpunkte sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Zeitplan

Zeitpunkt	CT- Volumetrie	Labor	FACS	LiMON	ELISA
24h prä-OP	x	x	x	x	x
0h post Resektion			x		x
3h post Resektion					x
6h post Resektion				x	x
24h post Resektion	x	x	x	x	x
2d post Resektion		x	x	x	x
4d post Resektion		x	x	x	
6d post Resektion		x		x	x
10d post Resektion		x		x	
21d post Resektion	x	x	x	x	
90d post Resektion	x	x	x	x	

2.2 Patientencharakterisierung

Die Durchführung dieser Studie wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Aktenzeichen #2852, #2853, #2916) befürwortet. Alle Patienten wurden ausführlich mit dem Ziel und den Methoden der Studie vertraut gemacht und eine schriftliche Einwilligungserklärung zur Teilnahme wurde eingeholt. Die Patienten wurden nach Sichtung der Krankenakten in Hinblick auf Ein- und Ausschlusskriterien nach ihrer Bereitschaft zur Teilnahme gefragt und bei Einwilligung in die Studie eingeschlossen. Die Auswahl der Patienten erfolgte fortlaufend entsprechend des Operationsplanes.

Einschlusskriterien waren:

- Schriftliche und mündliche Einwilligung zur Studienteilnahme
- Primäres oder sekundäres Neoplasma mit der Indikation zur Hepatektomie

Demgegenüber standen folgende Ausschlusskriterien:

- Nicht erfüllte Einschlusskriterien

- Bekannte Überempfindlichkeit gegenüber Indocyaningrün (ICG)
- Hämatologische Erkrankungen
- Jodallergie
- Manifeste Hyperthyreose
- Fokale und diffuse Autonomien der Schilddrüse
- Schwangerschaft

Es nahmen 20 Patienten und 10 Patientinnen an der Studie teil. Die Patienten hatten zum Zeitpunkt der operativen Maßnahme ein Durchschnittsalter von 64,8 Jahren (48-82). Folgende Grunderkrankungen ergaben die Indikation zur chirurgischen Therapie:

Primäre hepato- und cholangiozelluläre Karzinome	14 Patienten	= 46,7%
Lebermetastasen	13 Patienten	= 43,3%
andere	3 Patienten	= 10%

Als operative Resektionsverfahren wurden folgende chirurgische Eingriffe durchgeführt:

atypische Resektion	9 Patienten	= 30%
Hemihepatektomie links	6 Patienten	= 20%
Trisegmentektomie	6 Patienten	= 20%
anatomische Resektion weniger Segmente	5 Patienten	= 16,7%
Hemihepatektomie rechts	4 Patienten	= 13,3%

Eine detaillierte Charakterisierung der einzelnen Patienten und Patientinnen sowie deren Zuordnung in die Gruppe A bzw. B zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2: Beschreibung der in die Studie eingeschlossenen Patientinnen und Patienten

Pat-Nr	Ge-schlecht	Alter bei OP	Neoplasie	Leberresektion	Gruppe	OP-Dauer (min)	Hosp.-dauer (d)	Resektion (0=R0,1=keine R0)	Tu-Art (0=Metast,1=CCC,2=HCC,3=and.)
1	m	53	M (Malignes Melanom)	Atypische Resektion (V+VI)	A	146	20	0	0
2	w	64	M (Mamma-Ca)	Hemihepatektomie li	A	295	14	0	0
3	w	64	Klatskin-Tumor	Trisegmentektomie	B	650	29	0	1
4	w	71	M (Nierenzell-Ca)	Resektion Segmente VI+VII	A	240	11	0	0
5	m	67	HCC	Hemihepatektomie re	B	410	26	0	2
6	m	53	M (Karzinoid)	Atypische Resektion (Cherrypicking)	A	370	21	1	0
7	w	67	HCC	Atypische Resektion (V)	A	277	27	1	2
8	m	74	Klatskin-Tumor	Trisegmentektomie	B	785	15 (†)	0	1
9	w	67	CCC	Trisegmentektomie	B	523	57 (*)	1	1
10	m	53	M (Rektum-Ca)	Atypische Resektion (II,III,IVa,V,VI,VII)	A	305	12	0	0
11	m	74	HCC	Atypische Resektion (I, III, VIII)	A	210	11	1	2
12	m	73	Epitheloidzellgranulom	Atypische Resektion (II)	A	150	8	0	3
13	m	68	CCC	Hemihepatektomie li	A	465	13	0	1
14	m	80	M (Kolon-Ca)	Resektion Segmente V+VI	A	320	11	0	0
15	m	56	HCC	Atypische Resektion (IVa)	A	185	10 (*)	1	2
16	m	48	Biliäres Zystadenom Leber	Hemihepatektomie li	A	310	7	0	3
17	w	65	M (Kolon-Ca)	Resektion Segmente II+III	A	265	9	0	0
18	m	57	Klatskin-Tumor	Trisegmentektomie	B	695	24	0	1
19	m	56	Klatskin-Tumor	Trisegmentektomie	B	499	12 (*)	0	1
20	w	79	HCC	Hemihepatektomie re	B	290	14	0	2
21	m	74	CCC	Hemihepatektomie li	A	280	16	0	1
22	m	82	M (Kolon-Ca)	Hemihepatektomie re	B	398	11 (†)	0	0
23	m	60	M (Rektum-Ca)	Trisegmentektomie	B	470	12	0	0
24	w	70	CCC	Resektion Segmente IVb+V	A	335	16	0	1
25	m	65	M (Dünndarm-Karzinoid)	Hemihepatektomie re	B	502	16	0	0
26	m	67	M (NSCLC)	Resektion Segment VII	A	300	14	0	0
27	m	48	Myelolipom re Nebenniere	Atypische Resektion (VII)	A	178	14 (*)	0	3
28	w	57	M (Kolon-Ca)	Resektion Segment IVa, atypische Resektion (V, VII, VIII)	A	295	7	1	0
29	m	58	HCC	Hemihepatektomie li	A	365	10	0	2
30	w	73	M (Kolon-Ca)	Hemihepatektomie li	A	450	39 (*)	0	0

M: Metastasen; Gruppe A: <20% des initialen TLV, Gruppe B: >30% des initialen TLV; (†): gestorben; (*): in die andere Abteilung verlegt, bzw. auf eigenen Wunsch entlassen

2.3 Material

Antikörper für Durchflusszytometrie

APC anti human CD 34	Becton Dickinson (San Jose, USA)
APC Mouse IgG1 κ isotype control	Becton Dickinson (San Jose, USA)
CD133/2-PE (293C3) antibodies human	Miltenyi Biotec (Bergisch Gladbach, Deutschland)
FITC anti human CD45	Becton Dickinson (San Jose, CA, USA)
Mouse IgG2b-PE isotype control antibodies	Miltenyi Biotec (Bergisch Gladbach, Deutschland)

ELISA-Immunoassay

Quantikine human HGF Immunoassay	R&D Systems (Abingdon, United Kingdom)
Quantikine human IGF-1 Immunoassay	R&D Systems (Abingdon, United Kingdom)
Quantikine human SCF Immunoassay	R&D Systems (Abingdon, United Kingdom)
Quantikine human SDF-1 α Immunoassay	R&D Systems (Abingdon, United Kingdom)

Sonstige Reagenzien und Chemikalien

Aqua ad injectabile (zur Herstellung einer ICG-Injektionslösung)	
Aqua Delta Select	
DPBS (1x): (-) CaCl ₂ (-) MgCl ₂	GIBCO® (Karlsruhe, Deutschland)
FACS Clean	Becton Dickinson (Erembodegem, Belgium)
FACS Flow	Becton Dickinson (Erembodegem, Belgium)
FACS Lysing Solution	Becton Dickinson (San Jose, USA)
FACS Rinse	Becton Dickinson (Erembodegem, Belgium)
ICG-PULSION® 5mg/ml	Pulsion Medical Systems AG (München, Deutschland)

Weitere Verbrauchsmaterialien

Blutmonovetten	Becton Dickinson Vacutainer (Heidelberg, Deutschland)
----------------	---

Cryoröhrchen (2ml, Polypropylen)	greiner bio-one (Frickenhausen, Deutschland)
FACS-Röhrchen (5ml Rundbodenröhrchen, Polystyrol)	Becton Dickinson (Erembodegem, Belgium)
Pipetten 5 ml, 10ml, 25ml	Costar Stripetten (New York, USA)
Pipettenspitzen 0,1-10µl (Extended Length Filter Tips) 1-100µl (Bevelled Filter Tips) 1-200µl (Graduated Filter Tips) 101-1000µl (Extended Length Filter Tips)	STARLAB (Ahrensburg, Deutschland)
Testtubes (15ml, Polypropylen)	greiner bio-one (Frickenhausen, Deutschland)
Testtubes (50ml, Polypropylen)	greiner bio-one (Frickenhausen, Deutschland)

Geräte

ELISA-Reader Sunrise Remote	Tecan (Männedorf, Schweiz)
FACSCalibur Durchflusszytometer	Becton Dickinson (San Jose, USA)
Pipettboy	IBS Integra Bioscience (Fernwald, Deutschland)
Vortexer Lab Dancer	IKA (Staufen, Deutschland)
Zentrifuge Universal 30RF	Hettich (Tuttlingen, Deutschland)

2.4 Methoden

2.4.1 Blutprobenentnahme

Bei den Patienten wurden an den Zeitpunkten, die in der Tabelle 1 dargestellt sind, folgende Parameter im Zentrallabor des Uni Klinikums Düsseldorf bestimmt: kleines Blutbild, Natrium, Kalium, Kalzium, INR, Fibrinogen, PTT, Bilirubin, GOT, GPT, γ -GT, alkalische Phosphatase, CRP, Albumin. Zusätzlich wurden 4 EDTA und 3 Serum-Röhrchen abgenommen. Zur Probengewinnung kam das Blutmanovetten-System der Firma Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland, zur Anwendung. Die 3 EDTA- und 3 Serum-Röhrchen wurden unmittelbar nach der Entnahme für 10 Minuten bei 1500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, der Überstand wurde in Cryoröhrchen pipettiert und bei -80°C bis zur Weiterverarbeitung eingefroren.

Die Blutzellen des letzten EDTA-Röhrchens wurden innerhalb einer Stunde nach der Abnahme für die durchflusszytometrische Messung präpariert.

2.4.2 Durchflusszytometrie

Mit Hilfe von Durchflusszytometrie kann spezifisch und sensitiv die Ausprägung zellulärer Eigenschaften einzelner Zellen bezüglich Größe und Granularität sowie ihr Färbeverhalten untersucht werden. In dieser Studie wurde das postoperative Aufkommen an CD45⁺/133⁺ und CD45⁺/34⁺ Zellen im peripheren Blut beobachtet.

Verwendet wurde dazu ein FACSCalibur-Gerät der Firma Becton & Dickinson (San Jose, USA), sowie ein daran angeschlossener Apple Macintosh Computer mit CellQuest Software zur Darstellung und Analyse der gelieferten Daten.

Die Abkürzung FACS steht für **F**luorescence **A**ctivated **C**ell **S**orting.

Für die Messung wurden die Zellen mit fluorochromen Farbstoffen wie FITC, APC und PE markierten monoklonalen Antikörpern inkubiert. Im Durchflusszytometer konnte anhand des von den Farbstoffen jeweils ausgesendeten Fluoreszenzlichtimpulses der Anteil an Zellen ermittelt werden, der für die untersuchten Merkmale positiv ist. Durch Verwendung unterschiedlicher Farbstoffe, deren Emissionsspektren weit auseinander liegen (s. Abb.2), sind Mehrfachfärbungen möglich und es kommt nicht zu einer Überlappung der Frequenzen. Die minimal vorhandenen Überlappungen wurden durch eine durchgeführte Kompensation ausgeglichen.

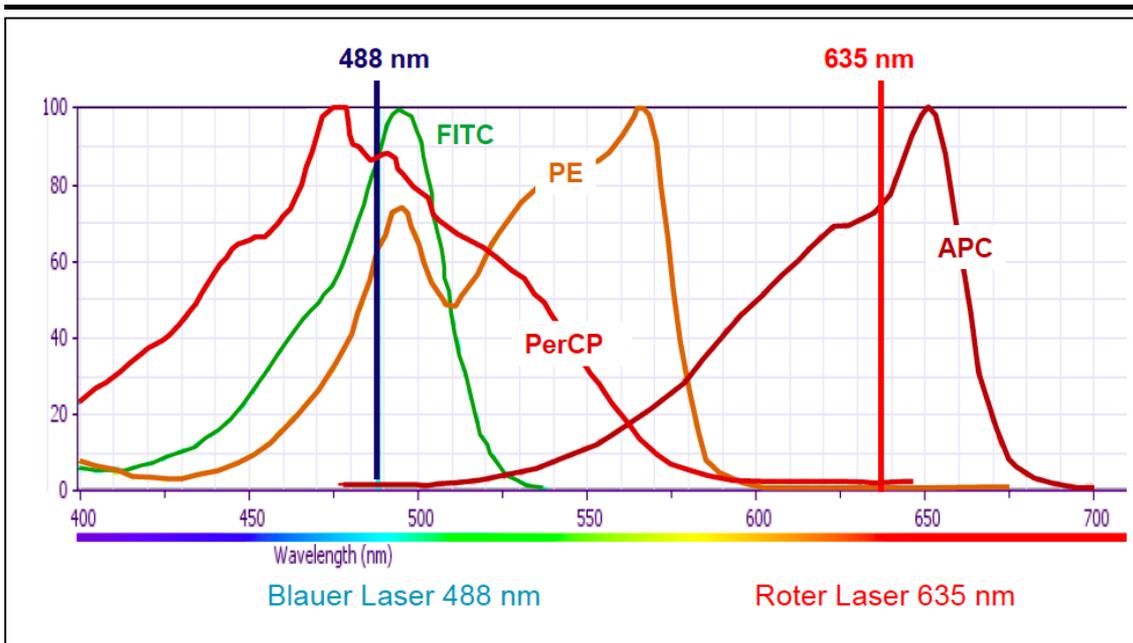


Abbildung 2: Emissionsspektren einzelner Fluorochrome. FITC: Fluorescein-5-isothiocyanat, PE: Phycoerythrin, APC: Allophycocyanin, PerCP: Peridin chlorophyll protein (79). Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Becton Dickinson AG, Heidelberg.

Es ist aber nicht nur die Wellenlänge des Lichtes, die sich analysieren lässt. Auch aus der Messung des eingefangenen Streulichts lassen sich wichtige Informationen gewinnen. Dabei wird zwischen Vorwärtsstreulicht (FSC: forward scatter) und Seitwärtsstreulicht (SSC: sideward scatter) unterschieden (s. Abb.3). Das in einem geringen Winkel ($3-10^\circ$) gestreute Licht, das FSC, korreliert mit der Zellgröße. Das um 90° reflektierte Licht, das SSC, gibt über Granularität, innere Komplexität, Membranfaltung und äußere Form der Zelle Aufschluss (s.Abb.3).

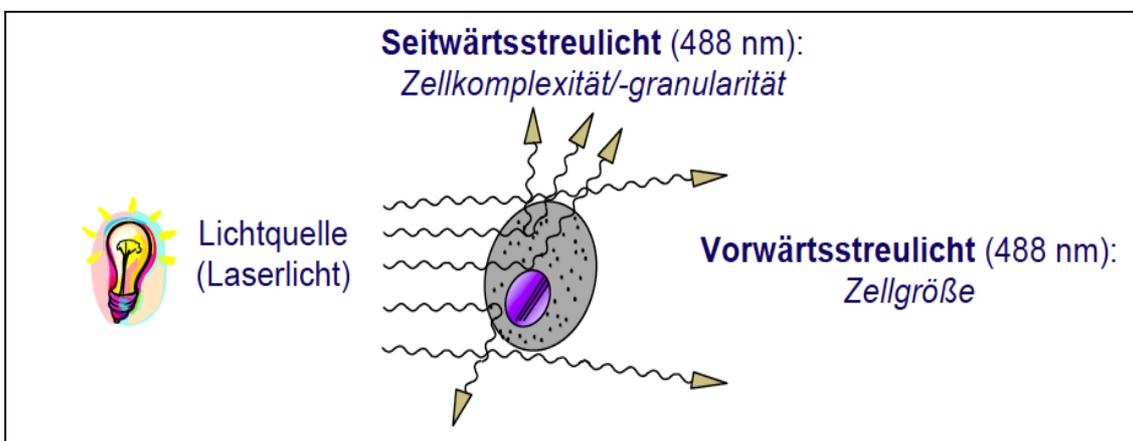


Abbildung 3: Entstehung von SSC und FSC im FACS (79). Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Becton Dickinson AG, Heidelberg.

Gemessen werden die einzelnen Zellen indem die Zellsuspension hydrodynamisch zu einem Strahl fokussiert wird, damit die Zellen den Messpunkt „perlschnurartig“ passieren können. Das erzeugte Signal wird umgewandelt, verstärkt und in Form von Histogrammen oder sog. Dotplots sichtbar gemacht. Um die interessierenden Zellen von Zelltrümmern, unbekannt Partikeln und anderen Zellarten abzugrenzen, können Auswertefenster („gating“) definiert werden. Schließlich lassen sich die Ergebnisse statistisch auswerten.

2.4.3 Prinzip der Probenaufarbeitung

Für die Probenaufbereitung wurden zunächst 2 FACS-Röhrchen beschriftet und folgendes Antikörpergemisch hergestellt:

1.Röhrchen: 10 μ l von CD45 FITC
10 μ l von CD133 PE
5 μ l von CD34 APC

2.Röhrchen: 10 μ l von CD45 FITC
10 μ l von ISO-133 PE
5 μ l von ISO-34 APC

Zu jedem Ansatz wurden 100 μ l EDTA-Blut pipettiert, gut gemischt und für 15 Minuten in Dunkelheit bei Zimmertemperatur inkubiert. Anschließend wurde der Ansatz mit je 2ml Lysing Solution (1:10 mit Aqua dest. verdünnt) aufgefüllt, wieder gut gemischt und für weitere 10 Minuten in Dunkelheit bei Zimmertemperatur inkubiert. Das mit Lysing Solution versetzte Zelllysat wurde im nächsten Schritt in einer Zentrifuge (Hettich Universal 30RF) bei 1500U/min für 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand verworfen. Anschließend wurden in die FACS-Röhrchen jeweils 4ml DPBS (1x) hinzugefügt, kurz gemischt und für 7 Minuten bei 1500U/min zentrifugiert. Schließlich wurde der Überstand verworfen und in die FACS-Röhrchen jeweils 500 μ l DPBS(1x) hinzugefügt. Unmittelbar danach erfolgte die durchflusszytometrische Messung.

2.4.4 ICG-Verschwinderate

Zu den in der Tabelle 1 dargestellten Zeitpunkten wurde bei den Patienten die Leberfunktion mit Hilfe von LiMON überprüft.

LiMON ist ein Monitor zur nicht-invasiven Messung der exkretorischen Leberfunktion, basierend auf der Elimination von ICG-PULSION, das den Farbstoff Indocyaningrün enthält. Für die Messung wurde ICG von der Firma Pulsion (ICG-PULSION, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland) verwendet. Es ist ein intravenöses Diagnostikum, dessen Konzentration im Blut mittels transkutaner Puls - Densitometrie überwacht wird. Der Farbstoff ICG ist eine wasserlösliche Substanz, die nach venöser Injektion unmittelbar an die Plasmaproteine bindet und nahezu ausschließlich durch die Hepatozyten aus der Zirkulation eliminiert und biliär ausgeschieden wird. ICG wird dabei nicht metabolisiert, unterliegt keinem enterohepatischen Kreislauf und seine Ausscheidungsrate stellt deswegen einen Maß für die globale Leberfunktion dar. Ein Schwachpunkt des metabolischen Leberfunktionstests ist allerdings seine mögliche Vulnerabilität gegenüber Enzyminduktoren bzw. -inhibitoren.

Gemessen wurden die Plasmaverschwinderate von ICG (PDR) und die ICG-Retentionsrate nach 15 Minuten (R15). Die Normwertbereiche betragen für PDR 18-25 %/min und für R15 0-10%. Ein Abfall der ICG-PDR deutet auf eine Verschlechterung der Leberfunktion hin.

Der Sensor wurde an einem Finger des Patienten platziert. Bei einem stabilen Signal wurde der Messvorgang gestartet und 0,5 mg/kg KG ICG nach vorheriger Verdünnung mit Aqua ad injectabile (10 ml) zügig intravenös injiziert. Danach war der Kurvenverlauf der PDR_{ICG} am Limon-Monitor zu beobachten und nach etwa 10-15 Minuten lagen die Messergebnisse vor. Bei allen Terminen eines Patienten wurde die gleiche Dosis ICG-PULSION verabreicht.

2.4.5 Blutwerte

An den in der Tabelle 1 aufgeführten Zeitpunkten erfolgte die Blutabnahme bei den Patienten und unter anderem wurden folgende Parameter im Zentrallabor bestimmt: Hämoglobin, Hämatokrit, Leukozyten, Thrombozyten, Natrium, Kalium, Kalzium, INR, Fibrinogen, PTT, Bilirubin, GOT, GPT, γ -GT, alkalische Phosphatase, CRP, Albumin. Die Werte sollten Aufschluss über die

Leberfunktion geben und somit die mit Hilfe von LiMON gewonnen Ergebnisse vervollständigen. Sie sollten aber auch Information über den Blutverlust, die Entzündungsreaktion sowie den Elektrolythaushalt der Patienten liefern.

2.4.6 Computertomographie

Zu den Zeitpunkten vor Operation, 1 Tag, 21 Tage und 3 Monate nach der Operation wurde bei den Patienten eine Abdomen-Computertomographie durchgeführt. Zu den jeweiligen Zeitpunkten konnte mit Hilfe von CT-Volumetrie das exakte Lebervolumen und der durch die Resektion verursachter Leberparenchymverlust bestimmt werden.

2.4.7 ELISA

Aus den eingefrorenen Proben wurden zu einem späteren Zeitpunkt mittels ELISA folgende Stammzelllockstoffe im peripheren Blut zu den in der Tabelle 1 dargestellten Zeitpunkten bestimmt: HGF, IGF, SCF und SDF-1.

ELISA steht für Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay und dient zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Antikörpern oder Antigenen, in diesem Fall von HGF, IGF, SCF und SDF-1. Dafür wurden die Immunoassays der Firma R&D Systems (Abingdon, United Kingdom) verwendet und entsprechend der mitgeführten Herstelleranweisung vorgegangen.

Es wurde die so genannte sandwich-assay-Technik angewendet. Sie findet Verwendung, wenn aus einem umfangreichen Proteingemisch ein spezielles Protein detektiert werden muss.

Die mitgelieferten 96-well-Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen spezifischen Antikörper gegen das jeweilige Antigen vorgeschichtet. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte werden mit dem Testserum überschichtet und inkubiert. Während dieser Zeit bindet der an der Platte gebundene Antikörper das in der Probe vorhandene Antigen. Nach Ablauf der Inkubationszeit wird die Platte gewaschen. Die ungebundenen Bestandteile der Probe werden dadurch entfernt und zurück bleibt nur das an den Antikörper gebundene Antigen. Der

Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt durch die Zugabe eines enzymmarkierten Sekundärantikörpers, der sich an den Antigen-Antikörper-Komplex bindet. Das gesuchte Antigen befindet sich zwischen zwei Antikörpern („Sandwich“). Nach Auswaschen der nicht gebundenen sekundären Antikörper wird das Substrat gegeben. Das an den Sekundärantikörper gekoppelte Enzym kann das Substrat umsetzen, es findet eine Farbreaktion statt. Die Enzym-Substrat-Reaktion wird nach einer bestimmten Zeit gestoppt und das Ergebnis durch eine photometrische Messung quantitativ bestimmt. Die Farbreaktion ist in ihrer Intensität proportional zur Menge des zu messenden Antigens.

2.4.8 Statistik

Es wurden für alle Ergebnisse die Mittelwerte und die Standardabweichung errechnet. Wo es sinnvoll erschien, wurde die statistische Signifikanz der Versuchsergebnisse nach dem Student'schen t-Test kalkuliert und grafisch dargestellt. Unterschiede wurden ab einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ als statistisch signifikant, bei $p < 0,01$ als sehr signifikant und bei $p < 0,001$ als hoch signifikant betrachtet und dementsprechend gekennzeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Stammzellen und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion

In die statistische Auswertung sind die in der Tabelle 3 dargestellten Patientenzahlen eingegangen. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, wurden am Tag vor der Operation 29, am 21. postoperativen Tag 22 und am 90. postoperativen Tag 20 Patienten untersucht. An den übrigen Tagen erfolgten die Untersuchungen bei allen 30 Patienten. Die Gründe für die abnehmenden Patientenanzahlen waren Tod innerhalb der Beobachtungszeit (2 Patienten), Verlegung in andere Kliniken (3 Patienten), fehlende Compliance bzw fehlende Erreichbarkeit nach der Entlassung (8 Patienten).

Tabelle 3: In die statistische Auswertung von Stammzell-Konzentrationen eingegangene Patientenzahlen.

Messzeitpunkte	Patientenzahlen					
	Eingeschlossen		Ausgeschlossen		Insgesamt	
	n	%	n	%	n	%
d-1	29	96,7	1	3,3	30	100
d1	30	100	0	0	30	100
d2	30	100	0	0	30	100
d4	30	100	0	0	30	100
d21	22	73,3	8	26,7	30	100
d90	20	66,7	10	33,3	30	100

Die Menge an CD45⁺/CD34⁺- und CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen wurde durchflusszytometrisch gemessen. Abbildung 4 zeigt exemplarisch die Messungen eines Patienten.

Zuerst wurden die Messergebnisse einer Probe in einem Punktdiagramm dargestellt, um die interessierende Fraktion einzugrenzen.

In einem ersten Diagramm (Abb.4 links oben) wurden die $CD45^+$ markierten Zellen dargestellt. Hier wurde als Marker Fluorescein-5-isothiocyanat (FITC) verwendet. Die FITC - markierten Zellen wurden gegen SSC, also Granularität, aufgetragen. Es wurde eine Region gesetzt, die die Zelltrümmer und die Nicht-Leukozyten ausschloß (G1).

In einem zweiten Diagramm (Abb.4 Mitte oben) wurden ausschließlich die Zellen aus G1 dargestellt. Hier wurde die Granularität (SSC) gegen die $CD133^+$ mit Phycoerythrin (PE) markierten Zellen aufgetragen. Dabei wurde eine Region ausgewählt, die die $CD133^+$ -Zellen eingrenzte.

In einem dritten Punktdiagramm (Abb.4 rechts oben) wurde die Granularität gegen die $CD34^+$ mit Allophycocyanin (APC) markierten Zellen aufgetragen. Auch hier wurden ausschließlich die Zellen aus G1 dargestellt und es wurde eine Region mit den $CD34^+$ -Stammzellen markiert.

In einem vierten Diagramm (Abb.4 links unten) wurden die schwach $CD45^+$ -Stammzellen identifiziert und in einem fünften Diagramm (Abb.4 Mitte unten) die Zellen nach ihrer Größe sortiert und die großen Zellen eingegrenzt.

In einer Quadrantenstatistik (Abb.4 rechts unten) wurden schließlich die $CD133^+$ - und $CD34^+$ -Stammzellen identifiziert und eingegrenzt.

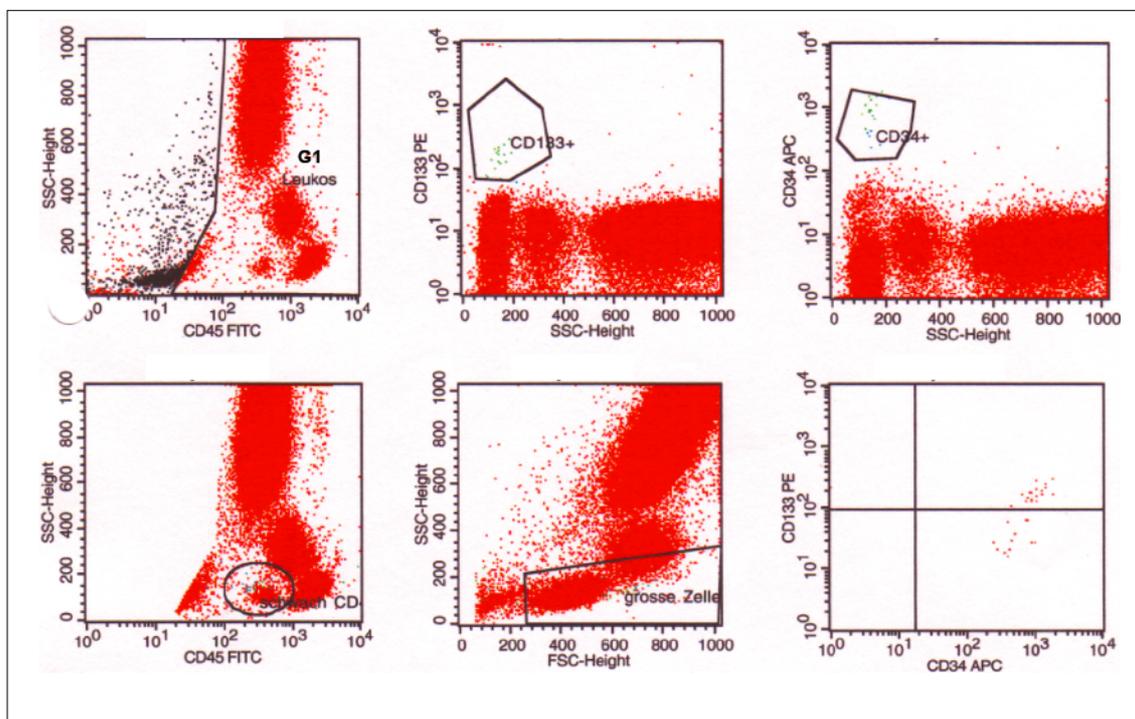


Abbildung 4: Exemplarische Darstellung einer durchflusszytometrischen Messung am Tag 21. Dargestellt sind die $CD45^+/CD34^-$ und $CD45^+/CD133^+$ -Stammzellen.

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Stammzell-Konzentrationen und deren Standardabweichungen sind graphisch dargestellt (Abb. 5 und 6). Gruppe A bezeichnet die Stammzell-Konzentrationen der Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

3.1.1 CD45⁺/CD34⁺ Stammzellen

Das an verschiedenen Zeitpunkten durchflusszytometrisch gemessene Aufkommen an CD45⁺/CD34⁺-Stammzellen zeigte in den Gruppen A und B einen gleichförmigen Verlauf (Abb. 5). Das Aufkommen der Stammzellen wurde prozentual mit dem Stammzellen-Anteil zum Zeitpunkt der Resektion (Stunde 0) verglichen.

Bis zum ersten Tag nach Resektion kam es sowohl in Gruppe A als auch in Gruppe B zu einem Abfall der CD34⁺-Stammzellen. Im Detail bedeutete dies einen Abfall von $220,71 \pm 58,73\%$ auf $24,29 \pm 24,56\%$ in Gruppe A und von $178,12 \pm 72,82\%$ auf $140,03 \pm 113,77\%$ in Gruppe B.

Am zweiten postoperativen Tag stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen an. Sie betrug in Gruppe A $64,46 \pm 36,39\%$ und in Gruppe B $353,63 \pm 175,66\%$, dabei war der Anstieg in Gruppe B signifikant größer ($p=0,038$).

Die Stammzell-Konzentrationen stiegen in beiden Gruppen bis zum vierten postoperativen Tag an. Sie betragen in Gruppe A $172,95 \pm 58,36\%$ und in Gruppe B $366,33 \pm 132,8\%$ und blieben bis zum 21. postoperativen Tag ohne signifikante Veränderungen.

Am 90. Tag kam es in Gruppe B zu einem Anstieg der CD34⁺-Stammzellen von $415,45 \pm 169,8\%$ am 21. Tag auf $564,12 \pm 203,3\%$ am 90. postoperativen Tag. In Gruppe A dagegen war ein leichter Abfall von $164,51 \pm 38,15\%$ am 21. Tag auf $108,16 \pm 23,27\%$ am 90. postoperativen Tag zu verzeichnen. Somit zeigte sich am 21. Tag nach der Operation lediglich ein Trend ($p=0,6$) und am 90. Tag ein hoch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p=0,001$).

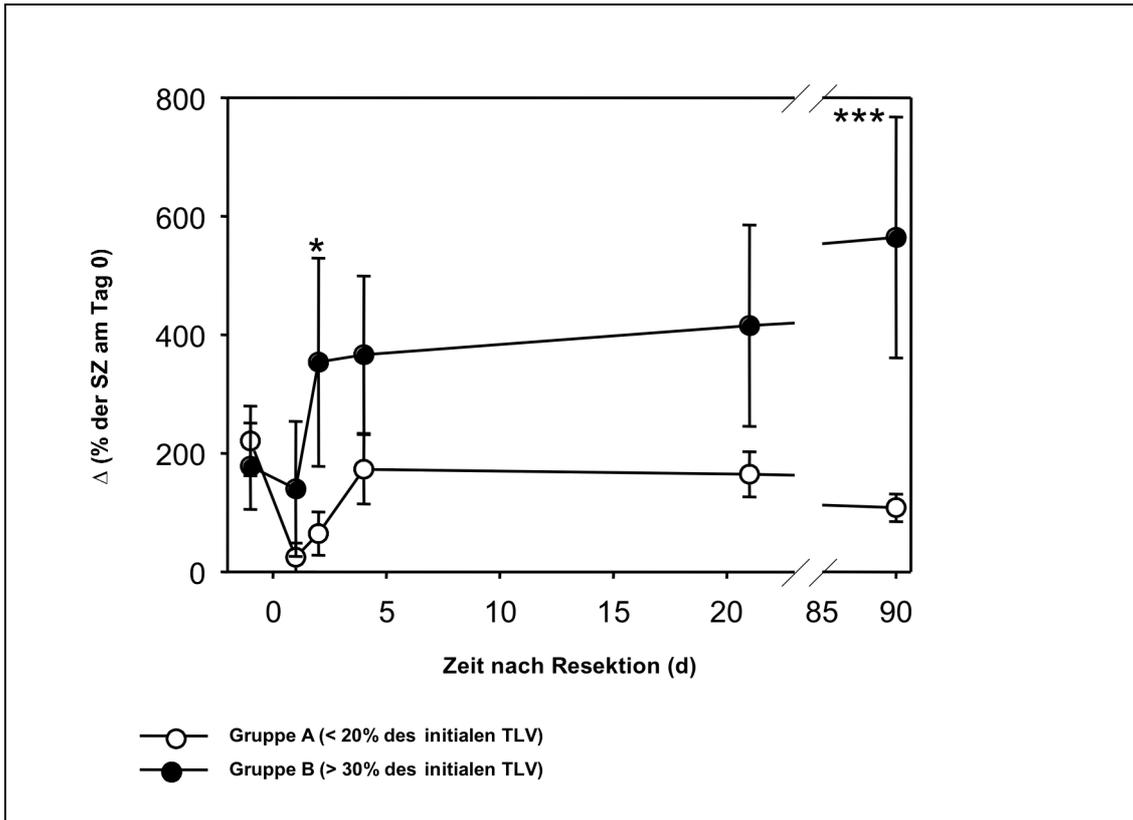


Abbildung 5: Konzentration von CD45⁺/CD34⁺-Stammzellen in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * p<0,05 zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** p<0,001 zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.1.2 CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen

Die Veränderungen im Aufkommen der CD133⁺-Stammzellen sind in Abbildung 6 dargestellt. Auch hier wurde die Anzahl der Stammzellen prozentual mit dem Stammzellen-Anteil zum Zeitpunkt der Resektion (Stunde 0) verglichen. Auch der Kurvenverlauf der in Gruppe A und in Gruppe B dargestellten durchflusszytometrisch gemessenen CD45⁺/CD133⁺-Stammzell-Konzentration ist vergleichbar.

Bis zum ersten Tag nach der Resektion war ein Abfall der Stammzell-Konzentrationen in beiden Gruppen zu erkennen. Dies bedeutete im Einzelnen einen Abfall von $229,19 \pm 55,59\%$ auf $78,77 \pm 25,34\%$ in Gruppe A und von $351,41 \pm 143,36\%$ auf $126,69 \pm 47,47\%$ in Gruppe B.

Zum zweiten Tag nach Resektion stiegen die Stammzell-Konzentrationen in beiden Gruppen wieder an; in Gruppe A auf $115,81 \pm 36,40\%$ und in Gruppe B

auf $463,51 \pm 144,76\%$. Dabei ergaben sich sehr signifikante Unterschiede ($p < 0,01$).

Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ließen sich bis zum Tag 21 nach Resektion nachweisen (d4 $p = 0,043$; d21 $p = 0,012$). In Gruppe A war ein Anstieg auf $238,59 \pm 56,82\%$ bis zum Tag 4 zu verzeichnen. Die Stammzell-Konzentration blieb bis zum 21. postoperativen Tag annähernd gleich, sie betrug $292,34 \pm 65,74\%$. In Gruppe B stieg die Stammzell-Konzentration bis zum 21. Tag an. Sie betrug am vierten postoperativen Tag $511,02 \pm 143,75\%$ und am 21. Tag nach der Operation $606,59 \pm 89,88\%$.

Bis zum 90. Tag nach der Operation kam es in beiden Gruppen zu einem leichten Abfall der gemessenen Konzentrationen, die Unterschiede waren allerdings im Vergleich zwischen den Gruppen nicht signifikant.

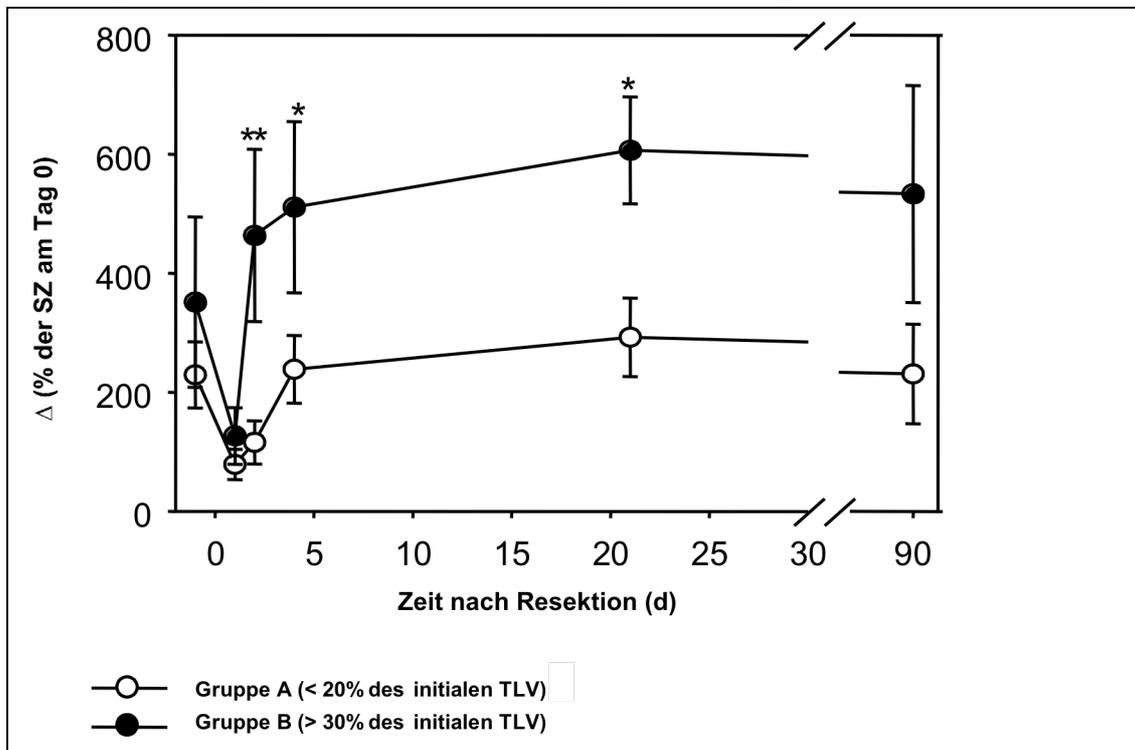


Abbildung 6: Konzentration von $CD45^+/CD133^+$ -Stammzellen in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.2 Zytokine und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion

In die statistische Auswertung sind die in Tabelle 4 dargestellten Patientenzahlen eingegangen. Wie aus der Tabelle ersichtlich, wurden jeweils am Tag vor der Operation 29 Patienten untersucht. An den übrigen Zeitpunkten erfolgten die Untersuchungen bei allen 30 Patienten.

Tabelle 4: In die statistische Auswertung von HGF-, SCF-, SDF-1-, IGF-1-Konzentrationen eingegangene Patientenzahlen.

Messzeitpunkte	Patientenzahlen					
	Eingeschlossen		Ausgeschlossen		Insgesamt	
	n	%	n	%	n	%
d-1	29	96,7	1	3,3	30	100
0h	30	100	0	0	30	100
3h	30	100	0	0	30	100
6h	30	100	0	0	30	100
d1	30	100	0	0	30	100
d2	30	100	0	0	30	100
d6	30	100	0	0	30	100

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Zytokin-Konzentrationen und deren Standardabweichungen sind graphisch dargestellt (Abb. 7 - 10). Gruppe A beinhaltet die Zytokin-Konzentrationen der Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

3.2.1 Hepatocyte growth factor

Die mittels ELISA bestimmten Werte zeigten, dass die hepatocyte growth factor (HGF) - Konzentration im peripheren Blut in den ersten zwei Tagen nach der Resektion sowohl in Gruppe A als auch in B anstieg. Die Veränderungen sind in Abbildung 7 dargestellt. Dabei kam es zu einem signifikanten Anstieg der HGF-

Konzentration in Gruppe B mit einem Maximum am ersten postoperativen Tag im Vergleich zur Gruppe A.

Bereits zur Stunde Null, also zum Zeitpunkt des Endes der Resektion, wurden sehr signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen beobachtet ($p < 0,01$). So stieg die HGF-Konzentration in Gruppe B von $2419,69 \pm 1299,15$ pg/ml auf $5258,43 \pm 3963,08$ pg/ml an, während es in Gruppe A sogar zu einem leichten Abfall von $1850,86 \pm 804,56$ pg/ml auf $1675,62 \pm 692,74$ pg/ml kam.

Drei Stunden nach Resektion fiel die HGF-Konzentration in Gruppe B von $5258,43 \pm 3963,08$ pg/ml auf $3420,47 \pm 1888,47$ pg/ml ab, stieg allerdings 6 Stunden nach Resektion auf $4710,07 \pm 2902,23$ pg/ml wieder an.

In Gruppe A war ein kontinuierlicher Anstieg der HGF-Konzentration in den ersten 6 Stunden nach Resektion bis auf $2490,4 \pm 674,75$ pg/ml zu erkennen. Sechs Stunden nach Resektion war ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu erkennen ($p = 0,012$).

Bis zum ersten postoperativen Tag kam es in beiden Gruppen zu einem weiteren Anstieg der HGF-Konzentration, sodass die Werte ein Maximum erreichten. In Gruppe A kam es zu einem Anstieg von präoperativ $1850,86 \pm 804,56$ pg/ml auf $3789,29 \pm 1238,97$ pg/ml und in Gruppe B von präoperativ $2419,69 \pm 1299,15$ pg/ml auf $6836,74 \pm 3748,85$ pg/ml. Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren signifikant ($p = 0,01$).

Ab dem zweiten postoperativen Tag glichen sich die Werte an und betragen am sechsten postoperativen Tag in Gruppe A $3733,74 \pm 1077,75$ pg/ml und $3697,4 \pm 1760,09$ pg/ml in Gruppe B.

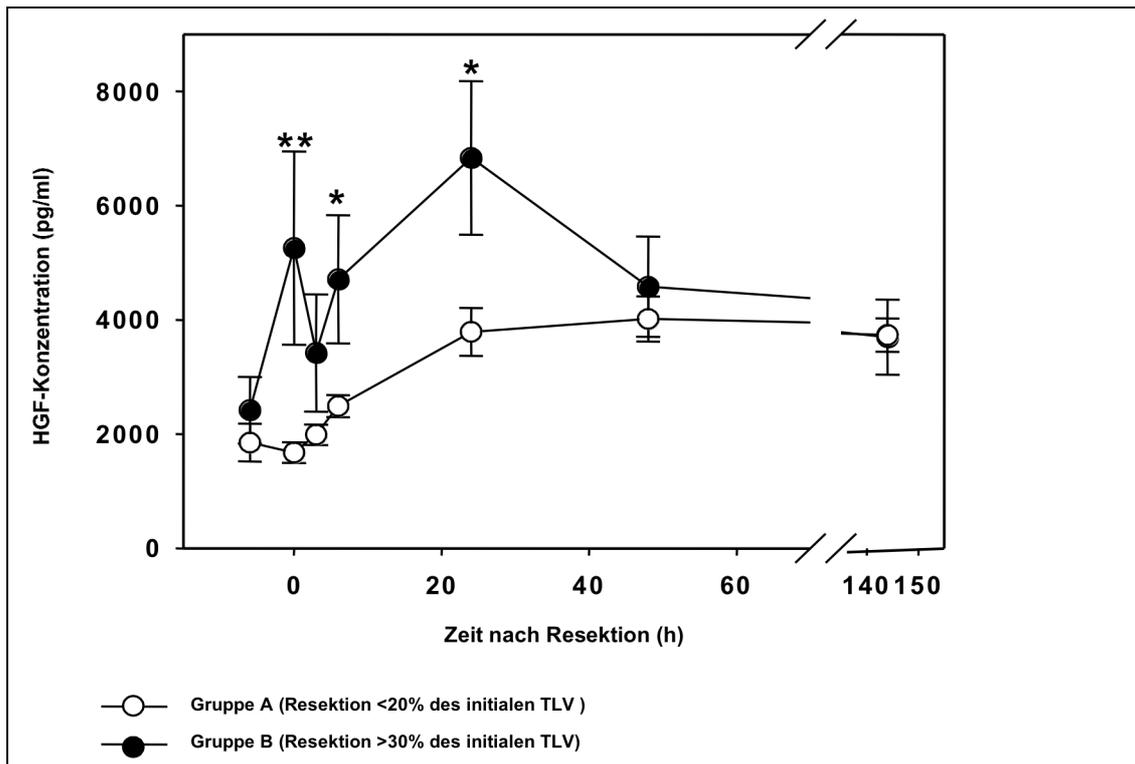


Abbildung 7: HGF-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.2.2 Stromal cell-derived factor 1

Die stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) - Werte zeigten sowohl in Gruppe A als auch in Gruppe B einen ähnlichen Verlauf, wie in Abbildung 8 dargestellt.

Bereits zur Stunde Null zeigten sich sehr signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($p < 0,01$). Im Einzelnen bedeutete das für Gruppe B einen Anstieg von präoperativ $2872,4 \pm 344,67$ pg/ml auf $3263,87 \pm 330,69$ pg/ml zur Stunde Null im Vergleich zu präoperativ $2698,41 \pm 507,88$ pg/ml auf $2508,84 \pm 520$ pg/ml zum Zeitpunkt der Resektion in Gruppe A.

Die SDF-1-Konzentration im Blut fiel in beiden Gruppen bis zur sechsten Stunde nach Resektion kontinuierlich ab und es blieben signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen (3h $p < 0,001$; 6h $p = 0,015$). In Gruppe B zeigte sich in der dritten Stunde nach Resektion ein hoch signifikanter Abfall ($p < 0,001$) der SDF-1-Konzentration auf $2873,19 \pm 244,73$ pg/ml im Vergleich zu Gruppe A, in der ein Abfall auf $2175,75 \pm 390,3$ pg/ml zu messen war. In der sechsten Stunde erreichten die Konzentrationen in beiden Gruppen ihre

niedrigsten Werte und betragen in Gruppe A $1995,29 \pm 382,89$ pg/ml und $2519,41 \pm 449,16$ pg/ml in Gruppe B.

Bis zum zweiten postoperativen Tag stiegen die Konzentrationen erneut an. Sie betragen in Gruppe A $2945,24 \pm 558,6$ pg/ml und in Gruppe B $3353,59 \pm 634,4$ pg/ml und blieben bis zum sechsten Tag nach Resektion annähernd gleich.

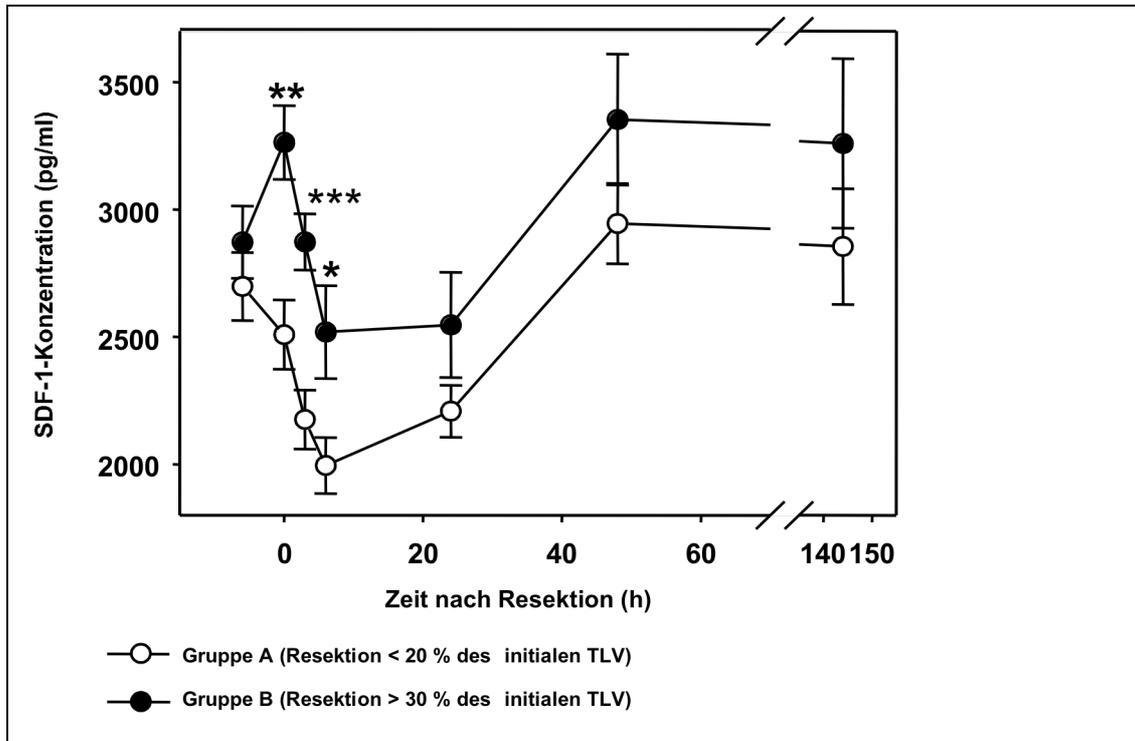


Abbildung 8: SDF-1-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und B, *** $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.2.3 Stem cell factor

Für die stem cell factor (SCF) Konzentrationen ergaben sich folgende Ergebnisse, die in Abbildung 9 zusammengefasst sind: in beiden Gruppen folgte einem Abfall der Konzentrationen zum Zeitpunkt der Resektion ein leichter Anstieg während des ersten postoperativen Tages. Für Gruppe A hieß dies einen Abfall von $758,98 \pm 198,4$ pg/ml auf $478,04 \pm 101,54$ pg/ml. Am ersten postoperativen Tag wurden $624,53 \pm 121,49$ pg/ml gemessen. Für Gruppe B bedeutete dies parallel dazu einen Rückgang der SCF-Konzentration von $659,56 \pm 140,12$ pg/ml präoperativ auf $516,77 \pm 176,78$ pg/ml zur Stunde

Null. Auch hier kam es am ersten postoperativen Tag zu einem Anstieg auf $618,99 \pm 118,6$ pg/ml.

Im weiteren Verlauf kam es in Gruppe A zu einem leichten Abfall der SCF-Konzentration, bis am sechsten Tag nach der Operation Werte von $656,27 \pm 187,28$ pg/ml erreicht wurden. Die Konzentration in Gruppe B stieg kontinuierlich an und betrug am sechsten postoperativen Tag $785,85 \pm 266,92$ pg/ml. Zwischen den beiden Gruppen konnten im Bezug auf die SCF-Konzentration keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden.

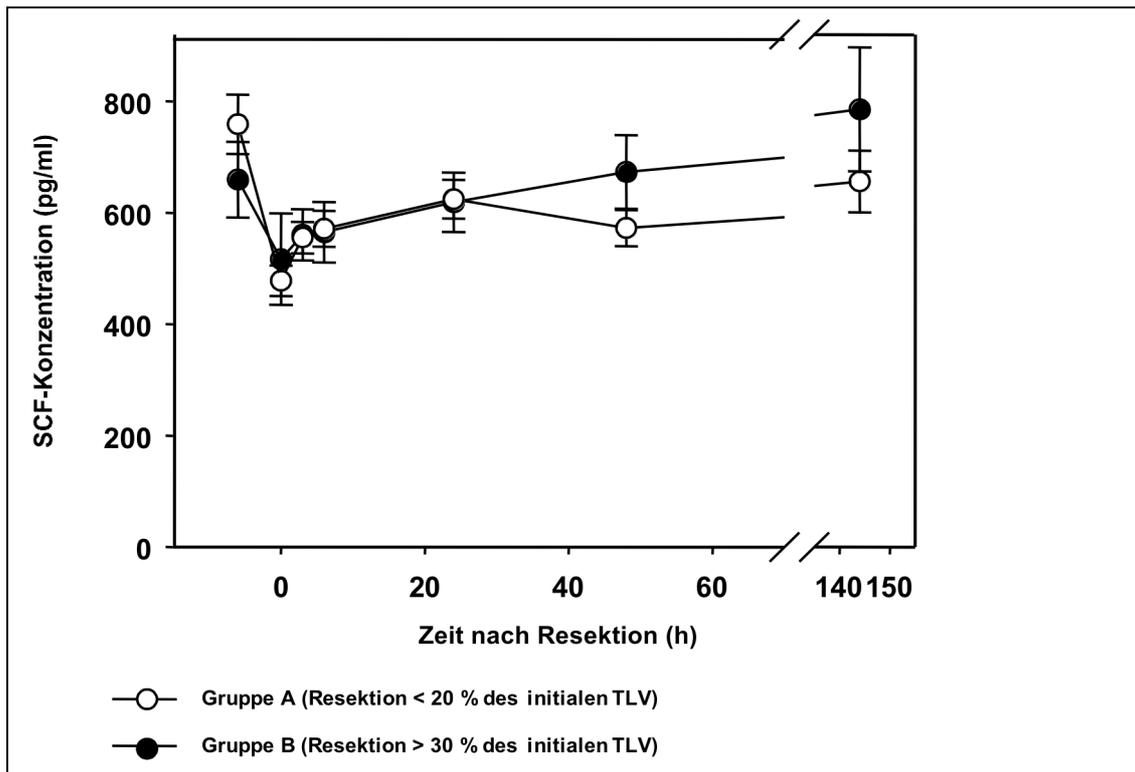


Abbildung 9: SCF-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion.

3.2.4 Insulin-like growth factor 1

Die zu verschiedenen Zeitpunkten gemessene Konzentration von Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) im peripheren Blut zeigte in den Gruppen A und B einen vergleichbaren Verlauf, die Veränderungen der Konzentration sind in Abbildung 10 dargestellt. Zum Zeitpunkt der Resektion (0h) wurde ein Abfall der IGF-1-Konzentrationen im Vergleich zu den präoperativ erhobenen Werten in beiden Gruppen beobachtet. Im Einzelnen bedeutete dies in Gruppe A einen Rückgang von präoperativ $0,6449 \pm 0,2118$ ng/ml auf $0,4207 \pm 0,0816$ ng/ml

zur Stunde Null und in Gruppe B entsprechend von präoperativ $0,5929 \pm 0,1429$ ng/ml auf $0,4501 \pm 0,1421$ ng/ml zum Zeitpunkt der Resektion.

Drei Stunden nach Resektion stieg die IGF-1-Konzentration in Gruppe B wieder auf $0,5253 \pm 0,1238$ ng/ml an, während sie in Gruppe A auf $0,4161 \pm 0,0828$ ng/ml weiter leicht abfiel. Dies bedeutete einen signifikanten Unterschied ($p=0,019$) zwischen den beiden Gruppen.

Sechs Stunden nach der Resektion wurde in Gruppe A ein Anstieg und in Gruppe B ein Abfall der IGF-1-Konzentration beobachtet, ohne dass signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen zu erkennen waren. Ab diesem Zeitpunkt hatten die beiden Kurven einen ähnlichen Verlauf und die Zytokin-Konzentrationen stiegen bis zum ersten Tag nach Resektion in Gruppe A auf $0,5052 \pm 0,1178$ ng/ml und in Gruppe B auf $0,5397 \pm 0,0818$ ng/ml an, um dann wieder abzufallen. Am sechsten postoperativen Tag betrug die mittlere IGF-1-Konzentration in Gruppe A $0,4512 \pm 0,1587$ ng/ml und $0,4188 \pm 0,101$ ng/ml in Gruppe B.

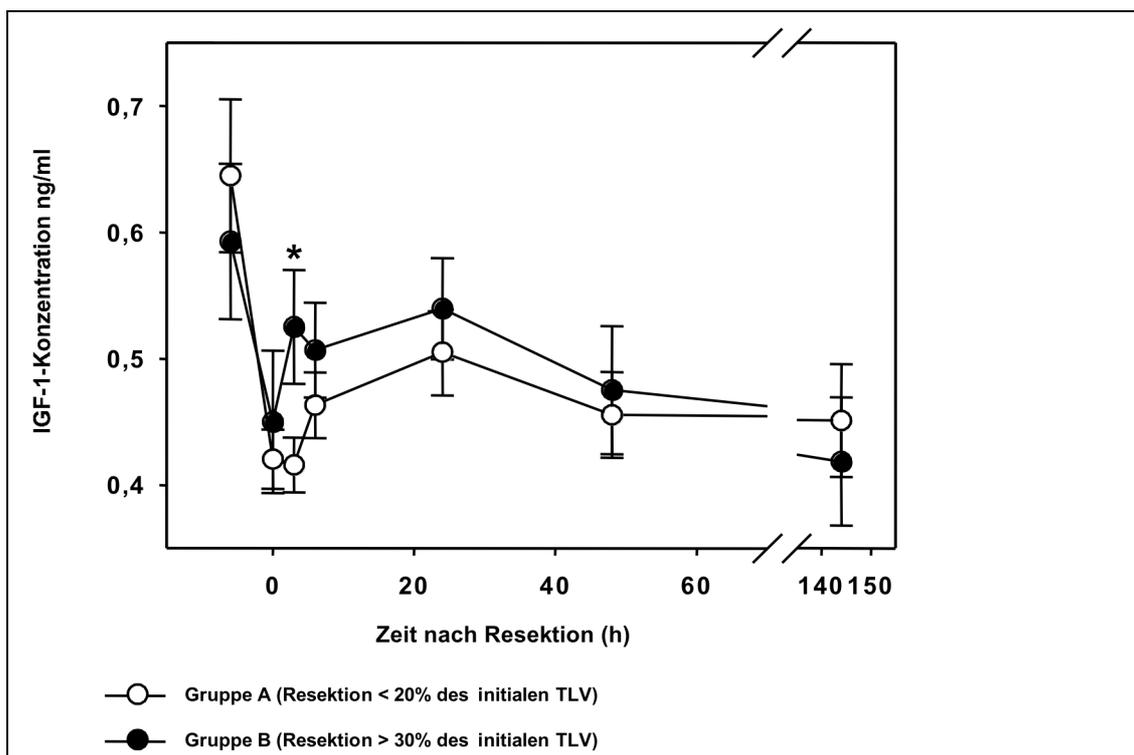


Abbildung 10: IGF-1-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p<0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.3 Korrelation von Zytokinen mit der Stammzellmobilisation nach Leberresektion

In die statistische Auswertung sind die in den Tabellen 3 und 4 dargestellten Patientenzahlen eingegangen.

Die Zytokin-Konzentrationen wurden in Bezug zu der Stammzell-Ausschüttung zu verschiedenen Zeitpunkten gesetzt. Dabei wurde analysiert, ob zwischen den Größen eine Korrelation bestand. Dabei wurde der Korrelationskoeffizient r und der Signifikanzwert p bestimmt.

Bei einem Korrelationskoeffizienten größer Null spricht man von einer positiven korrelativen Beziehung. Entsprechend bei einem Korrelationskoeffizienten kleiner Null von einer negativen korrelativen Beziehung. Beträgt der Korrelationskoeffizient $+1$, so besteht eine positive funktionale Beziehung, bei einem Korrelationskoeffizienten von -1 eine negative funktionale Beziehung.

Ein Korrelationskoeffizient >0 bei positiver Korrelation, bzw. <0 bei negativer Korrelation berechtigt allerdings nicht zur Aussage, es bestehe ein statistischer Zusammenhang. Eine solche Aussage ist nur gültig, wenn der ermittelte Korrelationskoeffizient signifikant ist.

3.3.1 Korrelation von HGF-Konzentration im Blut und CD34⁺-Stammzellen

Abbildung 11 zeigt die Beziehung, in der das Ausmaß der CD34⁺-SZ-Ausschüttung am Tag 1 (verglichen mit Tag 0) und die HGF-Konzentration zum Zeitpunkt der Resektion steht.

Der Korrelationskoeffizient betrug $0,613$, der Signifikanzwert war kleiner $0,001$. Somit konnte von einer hoch signifikanten positiven korrelativen Beziehung ausgegangen werden.

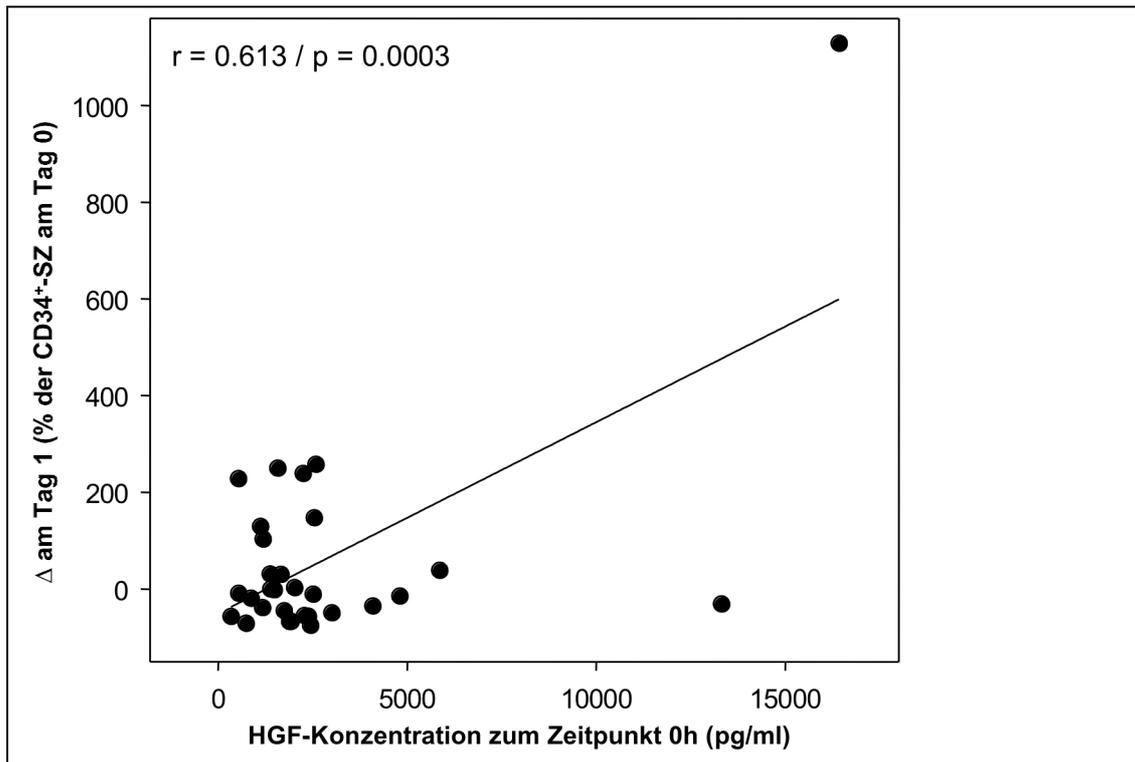


Abbildung 11: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 0 und CD34⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 1.

Auch 6 Stunden nach Resektion zeigte sich eine hoch signifikante positive korrelative Beziehung ($r=0,647$; $p<0,001$) zwischen der HGF-Konzentration und der Veränderung der CD34⁺-Stammzell-Konzentration am Tag eins (verglichen mit Tag Null). Dies ist in Abbildung 12 dargestellt.

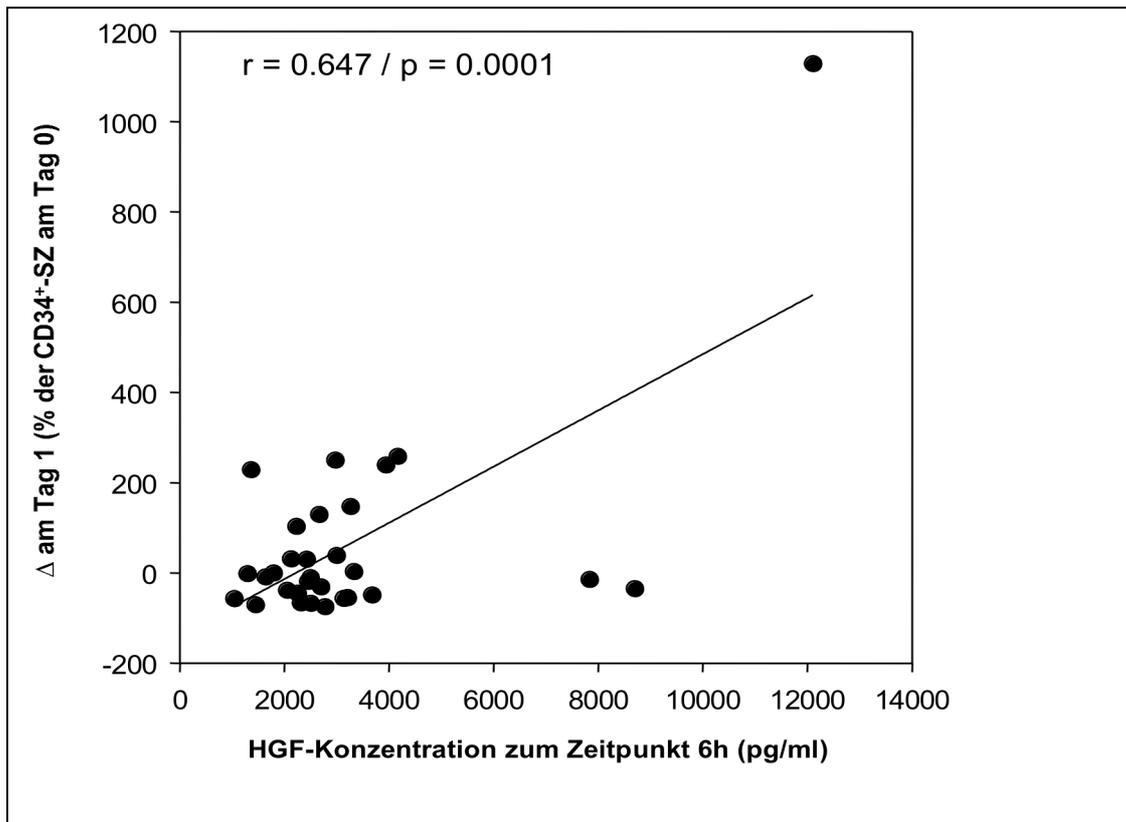


Abbildung 12: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 6h und CD34⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 1.

Im Weiteren ließen sich beim Vergleich der im peripheren Blut gemessenen HGF-Konzentration mit der CD34⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag zwei nach Leberteilresektion ebenfalls positive Zusammenhänge erkennen. Hierbei zeigten sich hoch signifikante Korrelationen zum Zeitpunkt Null ($r=0,694$; $p<0,001$) und 6 Stunden ($r=0,638$; $p<0,001$) nach Resektion. Graphisch sind diese Ergebnisse in den Abbildungen 13 und 14 zusammengefasst.

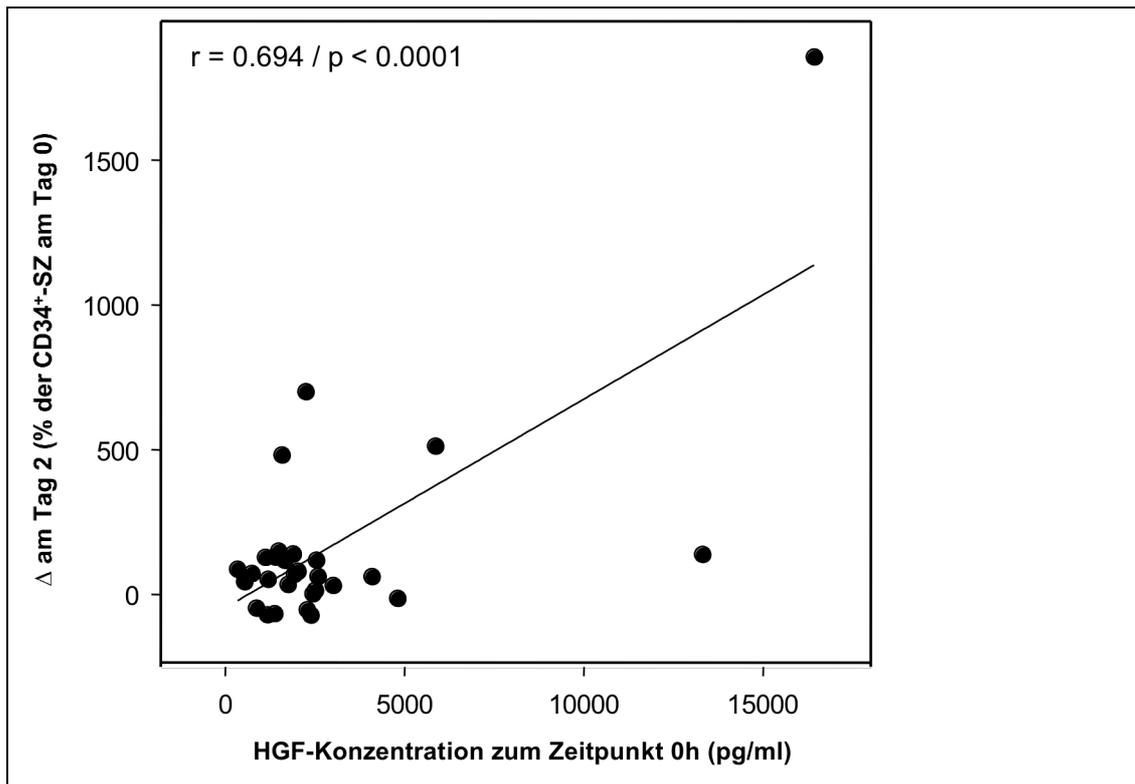


Abbildung 13: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD34⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.

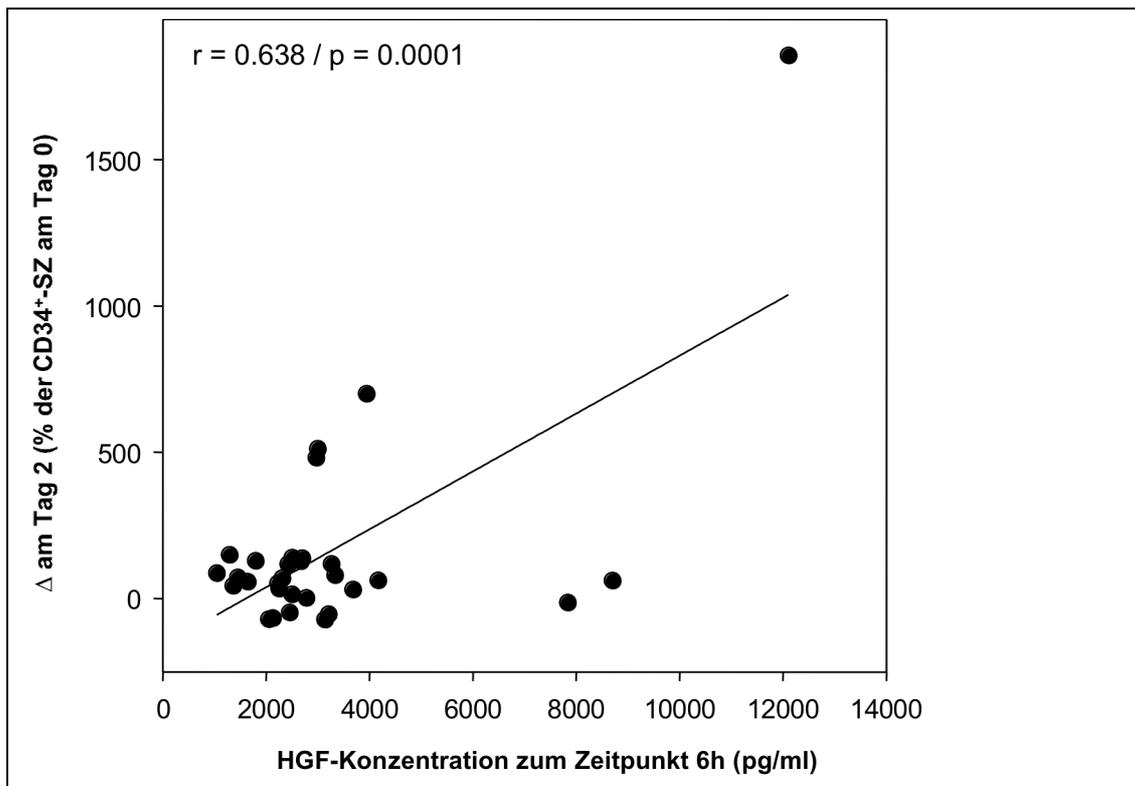


Abbildung 14: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 6h und CD34⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.

3.3.2 Korrelation von HGF-Konzentration im Blut und CD133⁺-Stammzellen

In Abbildung 15 ist in entsprechender Weise die HGF-Konzentration zum Zeitpunkt der Resektion (0h) und die durchflusscytometrisch gemessene CD133⁺-Stammzell-Konzentration am Tag zwei nach Leberteilresektion (im Vergleich Tag 0) dargestellt. Hierbei zeigte sich eine signifikante positive korrelative Beziehung zwischen den beiden Parametern ($r=0,624$; $p<0,01$).

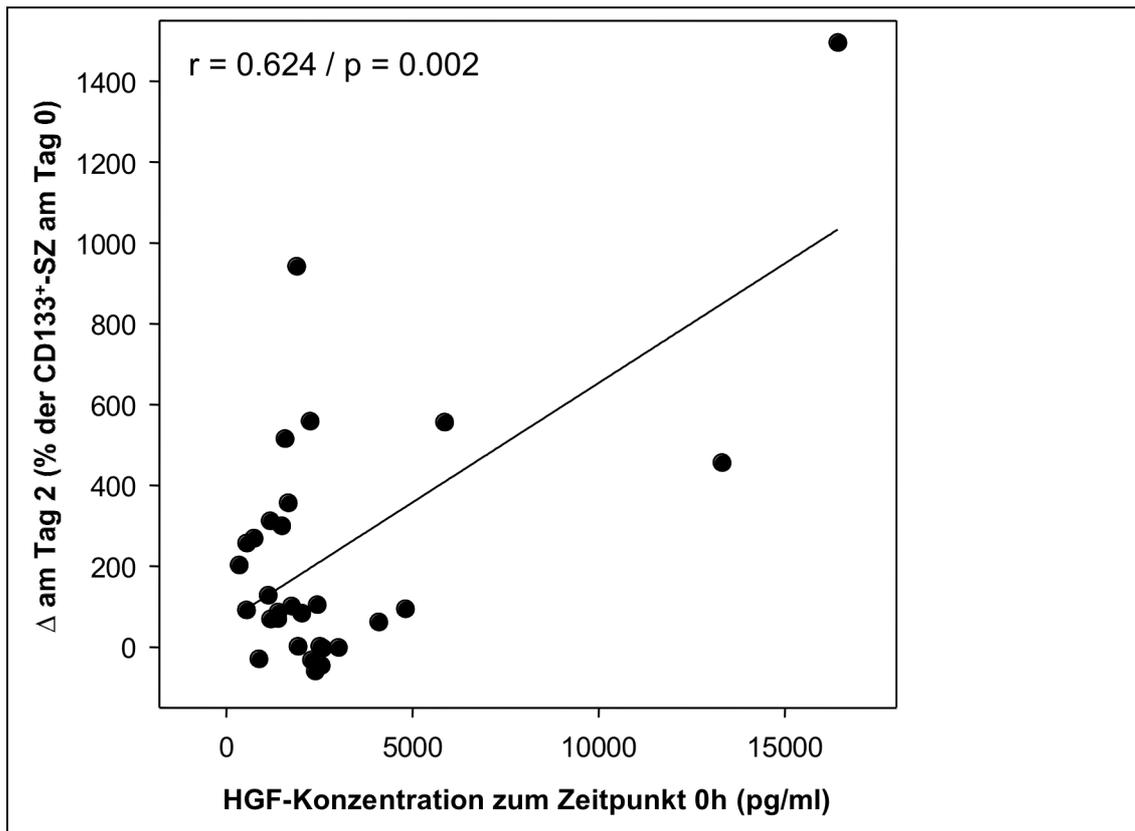


Abbildung 15: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.

Auch sechs Stunden nach Resektion wurde eine korrelative Beziehung zwischen der Stammzell-Ausschüttung und HGF-Konzentration im Blut beobachtet. Der Korrelationskoeffizient ($r=0,445$) erwies sich als signifikant ($p=0,014$). Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 16 dargestellt.

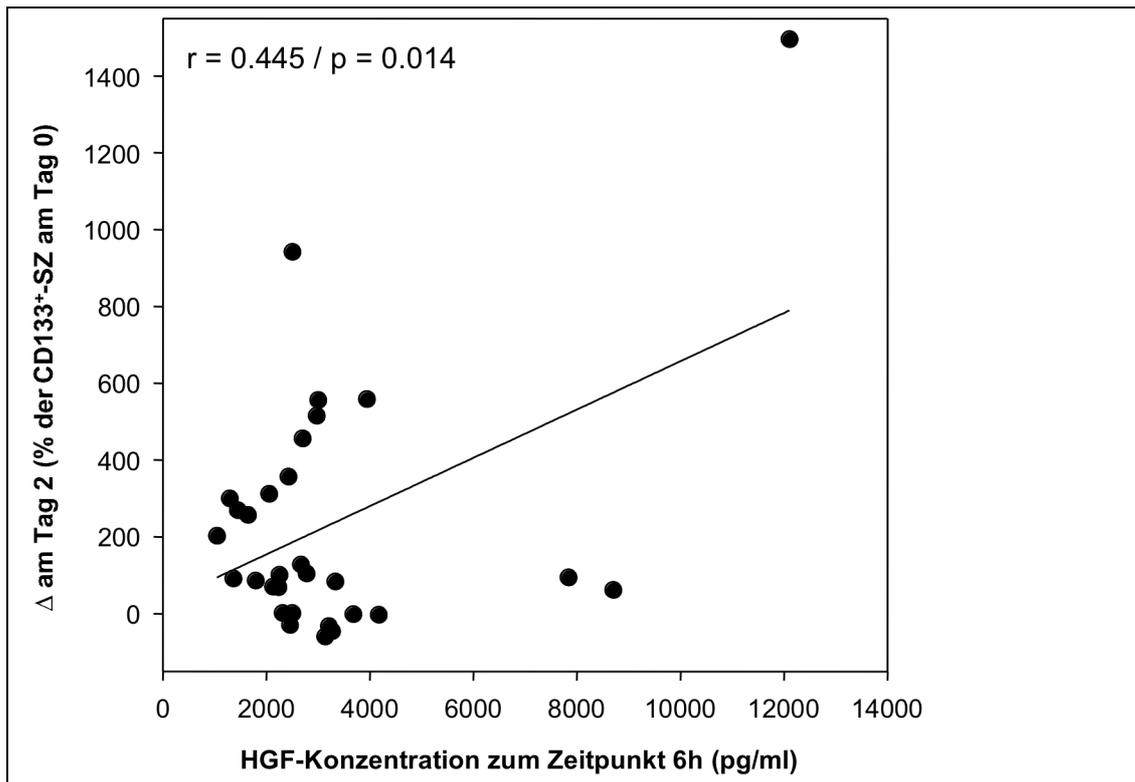


Abbildung 16: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 6h und CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.

Im Vergleich zwischen der HGF-Konzentration 24 Stunden nach Resektion und der CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag zwei (verglichen mit Tag Null) lassen sich positive Zusammenhänge nachweisen (Abbildung 17). Für diesen Zeitpunkt bestand eine signifikante positive Korrelation ($r=0,402$; $p=0,028$).

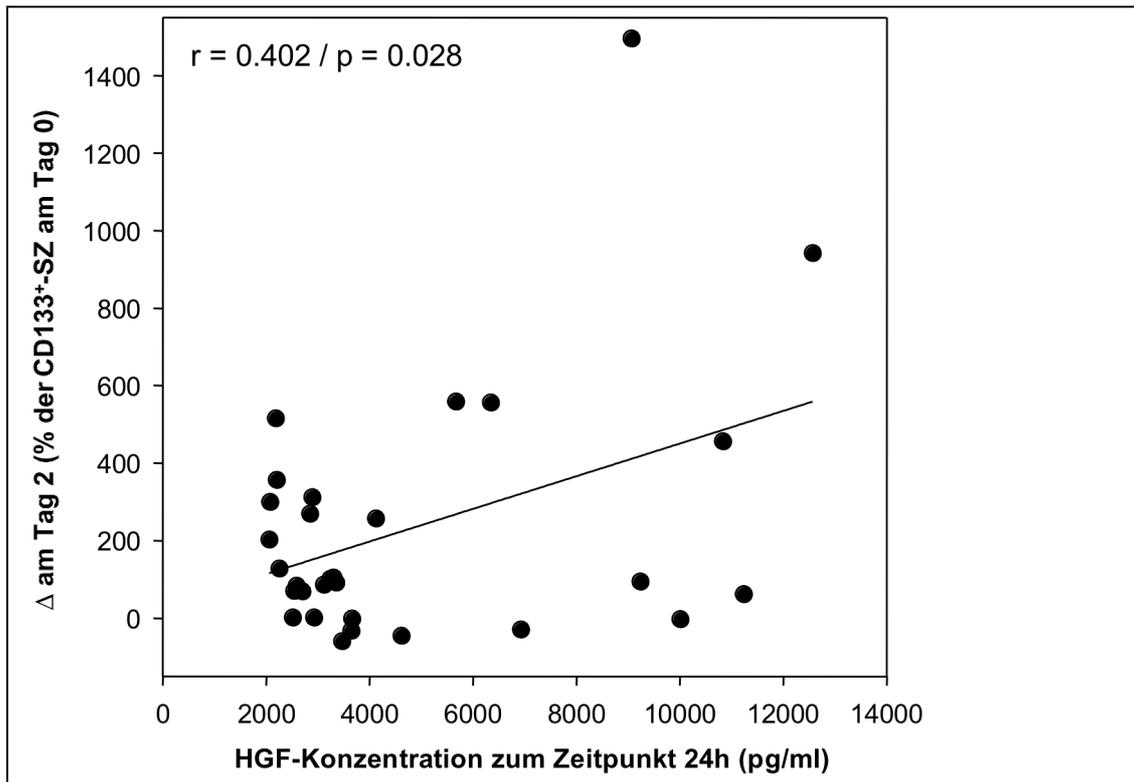


Abbildung 17: Korrelation zwischen HGF-Konzentration zum Zeitpunkt 24h und CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 2.

3.3.3 Korrelation von SDF-1-Konzentration im Blut und CD133⁺-Stammzellen

Die Abbildung 18 stellt die positive korrelative Beziehung zwischen der SDF-1-Konzentration im Blut zum Zeitpunkt Null und der Ausschüttung der CD133⁺-Stammzellen am Tag vier (im Vergleich zum Zeitpunkt Null) dar. Der Korrelationskoeffizient betrug 0,335, der Unterschied war jedoch nicht groß genug, um das Signifikanzniveau zu erreichen ($p=0,07$).

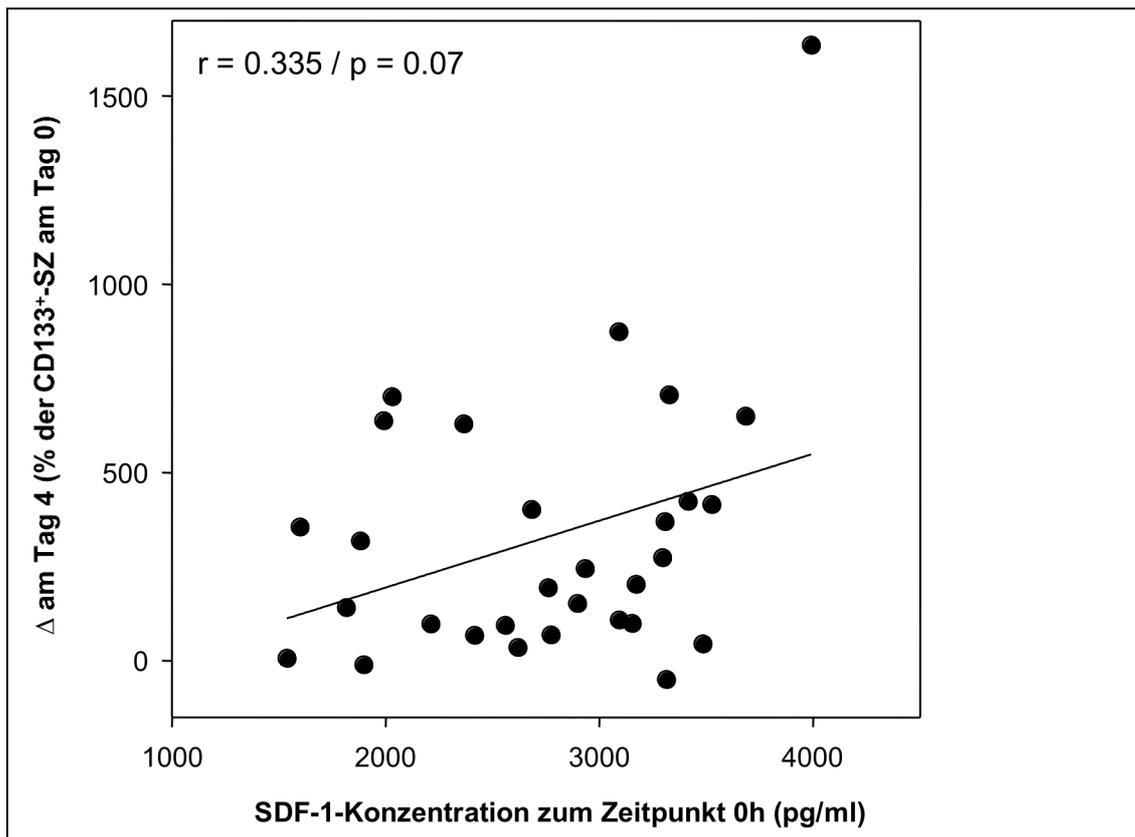


Abbildung 18: Korrelation zwischen SDF-1-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 4.

Am 21. Tag nach Leberteilresektion war nur ein Trend zwischen der SDF-1-Konzentration im Blut zum Zeitpunkt Null und der CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung nachzuweisen ($r=0,396$); eine signifikante Beziehung konnte nicht gezeigt werden ($p=0,068$). Dies zeigt Abbildung 19.

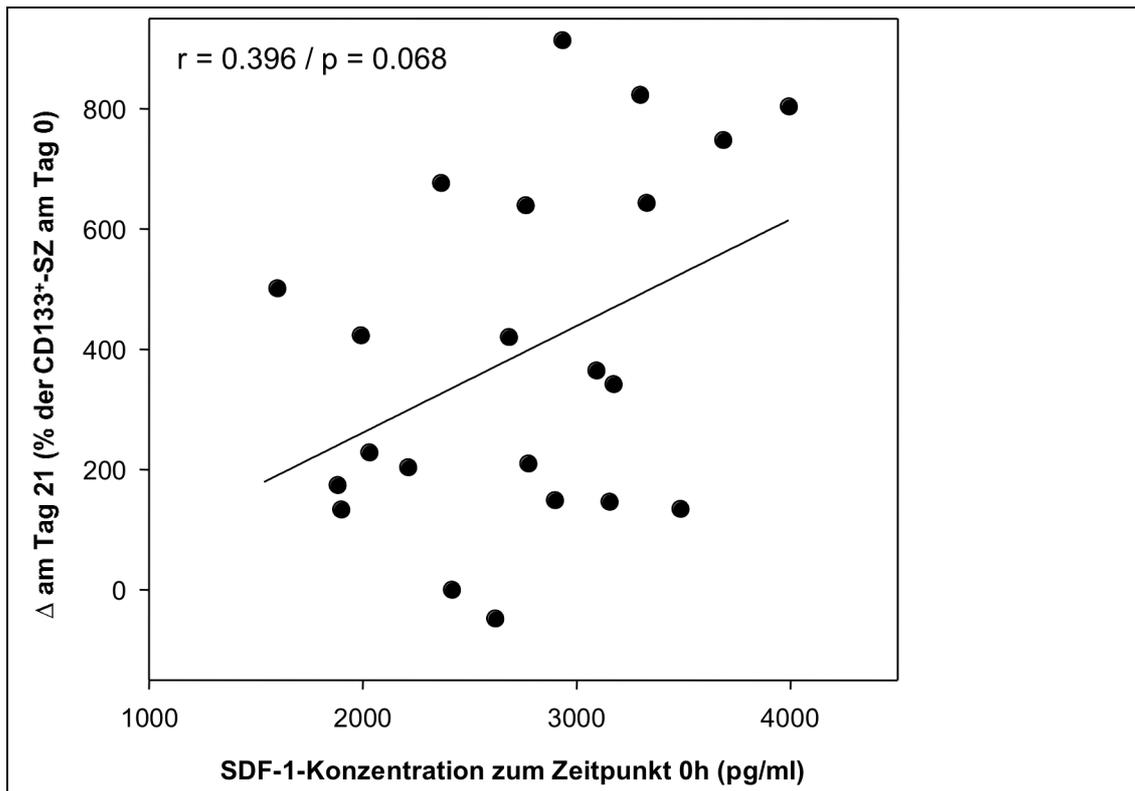


Abbildung 19: Korrelation zwischen SDF-1-Konzentration zum Zeitpunkt 0h und CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung am Tag 21.

3.4 Blutwerte und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion

3.4.1 EDTA

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Blutwerte und deren Standardabweichungen sind graphisch dargestellt (Abb.20-23). Gruppe A beinhaltet die Blutwerte der Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

Leukozyten

Die gemessenen Werte zeigen, dass die Leukozytenzahl im Blut in den ersten sechs Tagen relativ konstant geblieben ist (Abb.20). Bei den präoperativ gemessenen Werten wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen beobachtet ($p=0,01$). Die Leukozytenzahl in Gruppe A betrug $6,03 \pm 1,40 \times 1000/\mu\text{l}$ und in Gruppe B $8,36 \pm 3,20 \times 1000/\mu\text{l}$. Im Verlauf der ersten

sechs Tage glichen sich die Zahlen an und stiegen am 10. postoperativen Tag an, in Gruppe A von $8,85 \pm 2,48 \times 1000/\mu\text{l}$ auf $9,34 \pm 3,39 \times 1000/\mu\text{l}$ und in Gruppe B von $9,82 \pm 2,95 \times 1000/\mu\text{l}$ auf $12,74 \pm 4,40 \times 1000/\mu\text{l}$. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war zu diesem Zeitpunkt signifikant ($p < 0,05$). Zum 21. und 90. postoperativen Tag fielen die Leukozytenzahlen in beiden Gruppen ab und erreichten ein ähnliches Niveau. In Gruppe A wurde ein Mittelwert von $5,79 \pm 1,72 \times 1000/\mu\text{l}$ und in Gruppe B $5,82 \pm 3,14 \times 1000/\mu\text{l}$ errechnet.

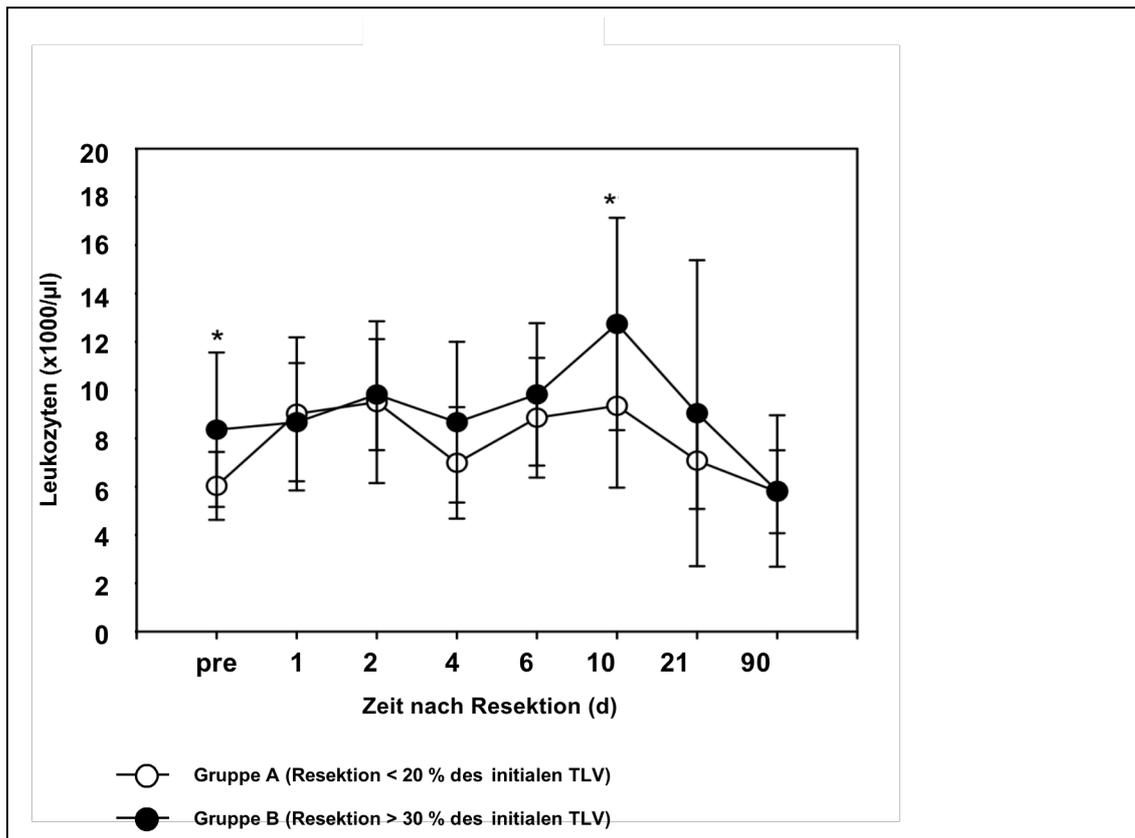


Abbildung 20: Leukozytenzahl in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Hämoglobin

Hämoglobin-Werte (Hb), die präoperativ und postoperativ gemessen wurden, zeigten in beiden Gruppen einen ähnlichen Verlauf (Abb.21). Präoperativ wurden in Gruppe A höhere Ausgangswerte gemessen. Die Unterschiede waren signifikant ($p = 0,035$), in Gruppe A betrug der Hb-Wert $13,71 \pm 1,61 \text{ g/dl}$ und in Gruppe B $11,82 \pm 1,35 \text{ g/dl}$. Bereits einen Tag nach der Operation sanken die Hb-Werte auf $10,46 \pm 1,18 \text{ g/dl}$ in Gruppe A bzw. $10,1 \pm 1,02 \text{ g/dl}$ in Gruppe B und blieben weitgehend stabil bis zum Tag 21 nach der Leberteilresektion

(11,91±1,36 g/dl in Gruppe A und 10,60±1,48 g/dl in Gruppe B), die Unterschiede waren nicht signifikant. Bis zum 90. postoperativen Tag glichen sich die Hb-Werte wieder an (13,30±1,09 g/dl in Gruppe A und 13,42±1,03 g/dl in Gruppe B).

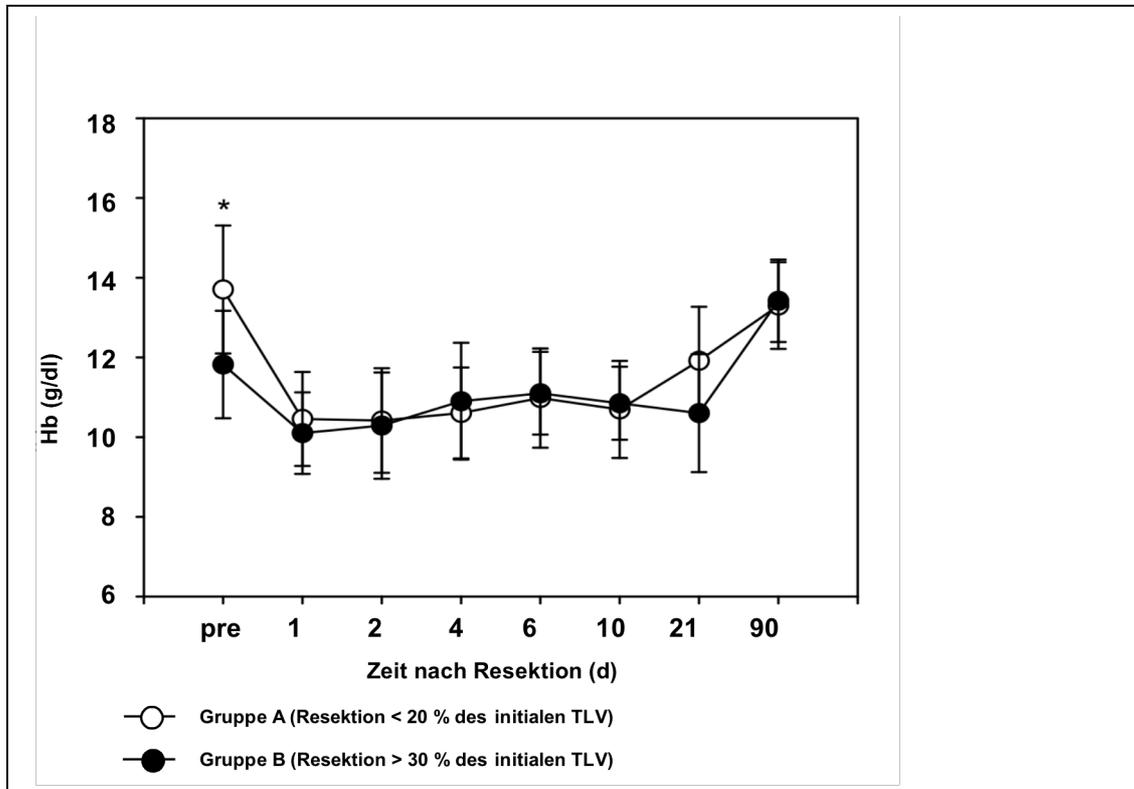


Abbildung 21: Hämoglobinwerte in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Hämatokrit

Wie in Abbildung 22 dargestellt, verhielten sich die gemessenen Hämatokritwerte (Hkt) ähnlich wie die Hämoglobinwerte. Im Vergleich zu Gruppe B waren in Gruppe A präoperativ höhere Werte zu verzeichnen (40,59±4,57 % in Gruppe A und 36,19±3,85 % in Gruppe B), der Unterschied war signifikant ($p=0,014$). Auch hier sanken die Hämatokritkonzentrationen in beiden Gruppen direkt einen Tag nach der Operation ab (30,93±3,70 % in Gruppe A und 30,00±3,36 % in Gruppe B). Der Unterschied war jedoch nur ein Trend, ohne das nötige Signifikanzniveau zu erreichen. Bis zum 10. postoperativen Tag stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen leicht an und betrugen in Gruppe A 31,95±3,67 % und in Gruppe B 32,99±2,67 %. Bis

zum 90. postoperativen Tag glichen sich die Hkt-Konzentrationen in beiden Gruppen an ($40,05 \pm 3,50$ % in Gruppe A und $40,04 \pm 3,82$ % in Gruppe B) ohne signifikant unterschiedlich zu sein.

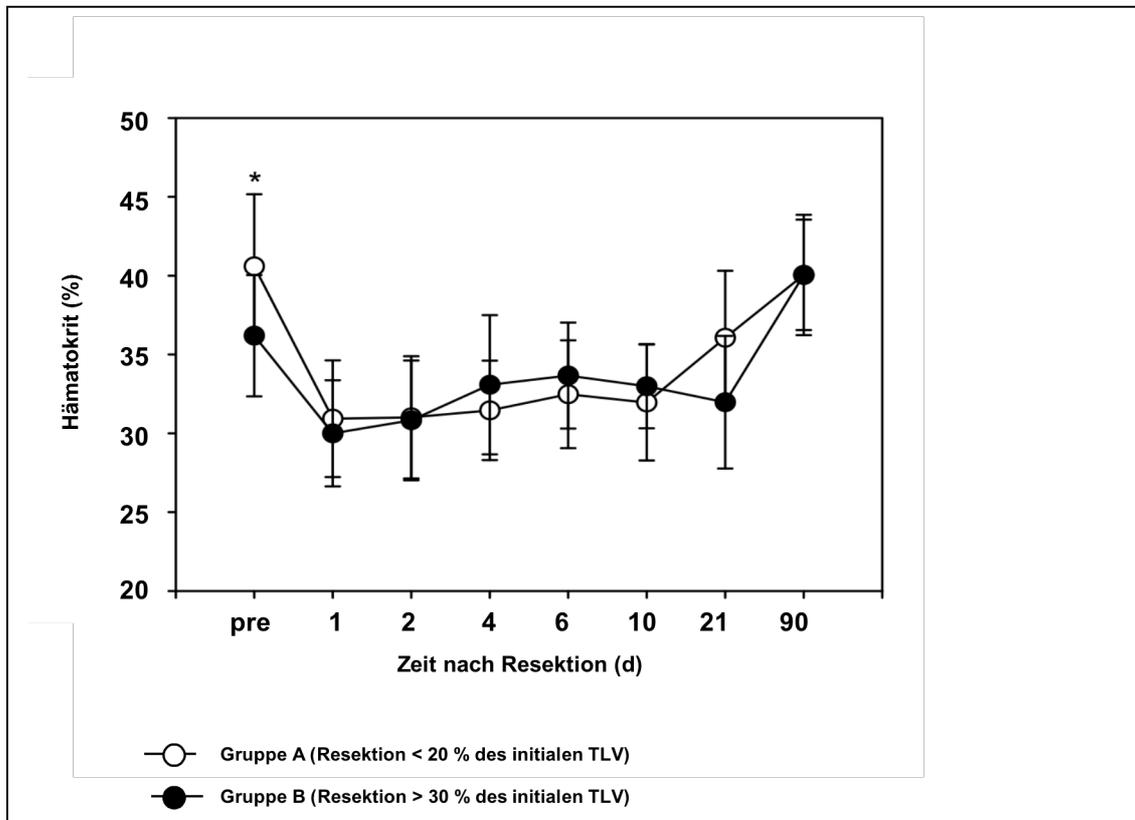


Abbildung 22: Hämatokritwerte in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Thrombozyten

Die Verläufe der Thrombozytenzahlen in beiden Gruppen waren ähnlich (Abb.23). Bei den präoperativ gemessenen Werten wurde ein sehr signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen beobachtet ($p < 0,01$). Die Thrombozytenzahl in Gruppe A betrug $217,65 \pm 77,43 \times 1000/\mu\text{l}$ und in Gruppe B $335,80 \pm 125,55 \times 1000/\mu\text{l}$. Im Verlauf der ersten sechs Tage nach der Resektion glichen sich die Werte an und betrugen in Gruppe A $224 \pm 103,21 \times 1000/\mu\text{l}$ und in Gruppe B $217 \pm 118,17 \times 1000/\mu\text{l}$. Bis zum 10. bzw. 21. postoperativen Tag stieg die Thrombozytenzahl in Gruppe A leicht an, erreichte allerdings kein Signifikanzniveau. Drei Monate nach der Resektion war die Thrombozytenzahl in beiden Gruppen fast identisch. In Gruppe A wurde ein Mittelwert von $205,38 \pm 96,83 \times 1000/\mu\text{l}$ und in Gruppe B von $232,20 \pm 129,27 \times 1000/\mu\text{l}$ errechnet.

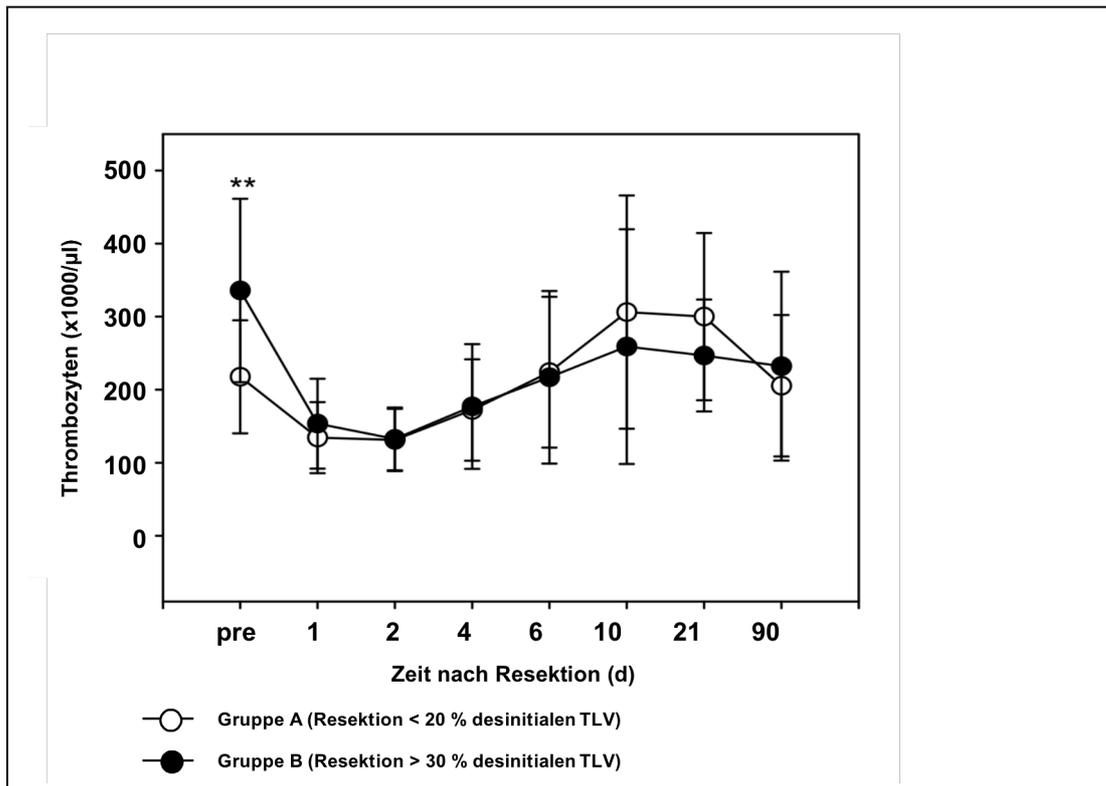


Abbildung 23: Thrombozytenzahl in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.4.2 Gerinnungsparameter

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Blutwerte und deren Standardabweichungen sind graphisch dargestellt (Abb.24-26). Gruppe A beinhaltet die Blutwerte der Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

International Normalized Ratio

Präoperativ unterschieden sich die International Normalized Ratio (INR) - Werte in beiden Gruppen kaum (Abb.24). Der Mittelwert betrug in Gruppe A $0,99 \pm 0,15$ und in Gruppe B $0,99 \pm 0,1$. Bereits einen Tag nach der Resektion waren jedoch sehr signifikante Unterschiede zu verzeichnen ($p < 0,01$), in Gruppe A wurde ein INR von $1,2 \pm 0,15$ und in Gruppe B von $1,37 \pm 0,16$ gemessen. Auch am zweiten Tag nach der Resektion blieben die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sehr signifikant ($1,16 \pm 0,14$ in Gruppe A und $1,35 \pm 0,22$ in Gruppe B,

$p < 0,01$). Am 4. postoperativen Tag fielen die INR-Werte in Gruppe A auf $1,01 \pm 0,12$ ab, während sie in Gruppe B auf $1,41 \pm 0,26$ anstiegen, sodass zu diesem Zeitpunkt der Unterschied zwischen den beiden Gruppen hoch signifikant war ($p < 0,001$). Auch am 6. postoperativen Tag blieben die Unterschiede zwischen Gruppe A und B sehr signifikant ($p < 0,01$), in Gruppe A betrug der INR-Wert $1,01 \pm 0,18$ und in Gruppe B $1,24 \pm 0,18$. Ab dem 10. Tag nach der Resektion wurden die Unterschiede zwischen den INR-Werten in beiden Gruppen immer kleiner, das Signifikanzniveau wurde nicht mehr erreicht. Drei Monate nach der Resektion betragen die INR-Werte in Gruppe A $1,29 \pm 0,70$ und in Gruppe B $0,98 \pm 0,08$.

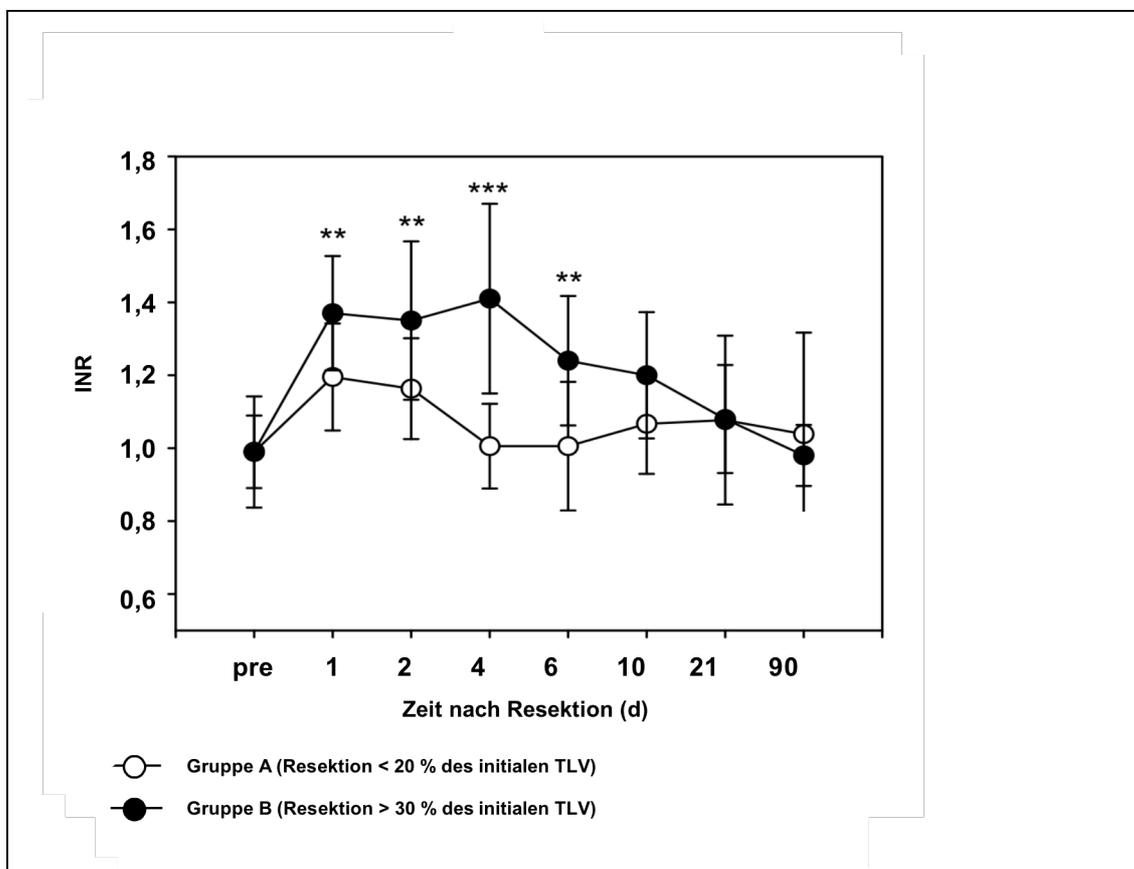


Abbildung 24: INR-Werte in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Fibrinogen

Bereits in der ersten Messung, also schon präoperativ, unterschieden sich die Fibrinogenkonzentrationen in beiden Gruppen sehr signifikant ($p < 0,01$), dies ist in Abbildung 25 dargestellt. In Gruppe A betrug der Fibrinogenwert

401,95±120,84 mg/dl und in Gruppe B 642,50±217,35 mg/dl. Zum ersten Tag nach der Operation blieb die Fibrinogenkonzentration in Gruppe A annähernd gleich (393,84±91,10 mg/dl) während in Gruppe B ein Abfall auf 318,1±111,8 mg/dl beobachtet wurde. In den nächsten Tagen kam es in Gruppe A zu einem stetigen Anstieg der Fibrinogenkonzentration. Die Fibrinogenkonzentration betrug am zweiten postoperativen Tag 590,18±205,49 mg/dl, am 4. postoperativen Tag 675,88±219,06 mg/dl und am 6. postoperativen Tag 672,57±220,06 mg/dl. In Gruppe B blieb die Fibrinogenkonzentration in den ersten sechs Tagen postoperativ annähernd gleich und betrug 374±128,82 mg/dl am zweiten postoperativen Tag, 342,78±153,19 mg/dl am 4. postoperativen Tag und 361,10±145,62mg/dl am 6. Tag nach der Resektion. Somit waren die Unterschiede in beiden Gruppen am zweiten postoperativen Tag sehr signifikant ($p < 0,01$) und am 4. und 6. postoperativen Tag hoch signifikant ($p < 0,001$). Im weiteren Verlauf blieben die Fibrinogenkonzentrationen in beiden Gruppen annähernd auf demselben Niveau. Drei Monate nach der Resektion glichen sich die Fibrinogenkonzentrationen in beiden Gruppen an und betrugen in Gruppe A 456,36±151,08 mg/dl und in Gruppe B 469,40±251,20 mg/dl.

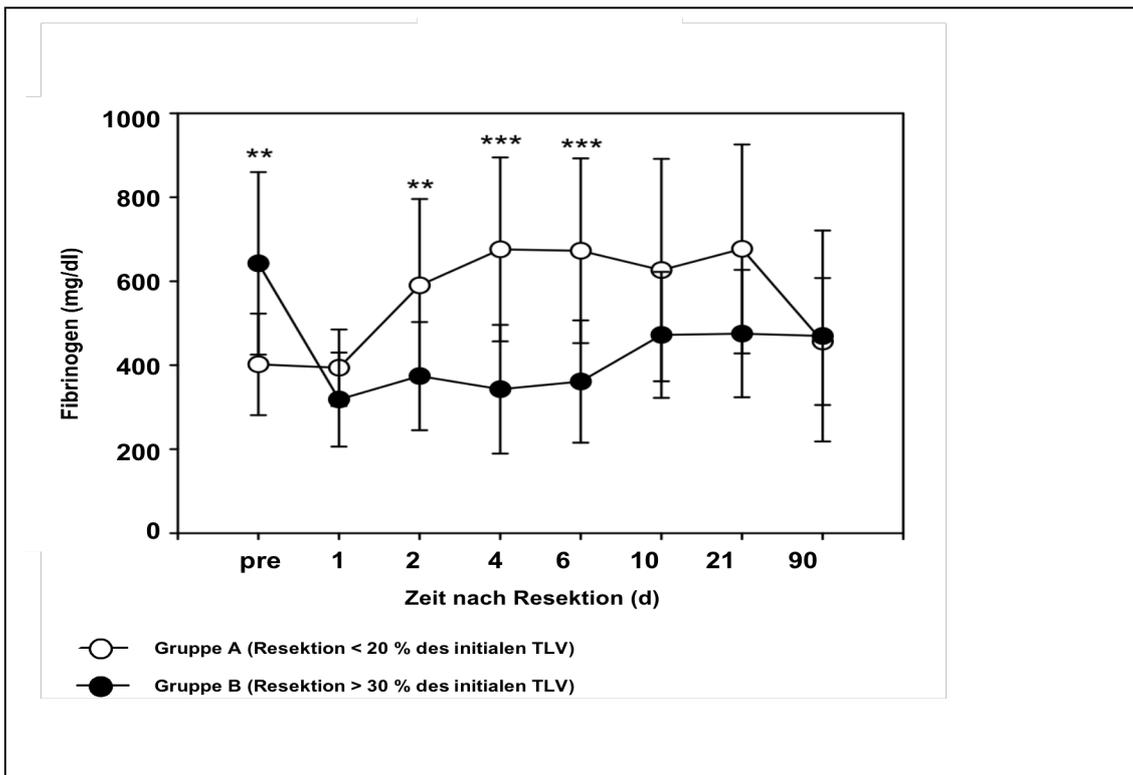


Abbildung 25: Fibrinogenkonzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Partielle Thromboplastinzeit

Die gemessene partielle Thromboplastinzeit (PTT) verhielt sich in beiden Gruppen ähnlich (Abb.26). Einen Tag nach der Resektion stieg die PTT in Gruppe A von $32,05 \pm 4,92$ sec auf $37,90 \pm 5,66$ sec und in Gruppe B von $32,9 \pm 5,66$ sec auf $44,50 \pm 16,13$ sec an. Bis zum 4. postoperativen Tag waren keine signifikanten Unterschiede zu messen. Am Tag 4 nach der Operation betrug die PTT in Gruppe A $32,44 \pm 3,94$ sec und in Gruppe B $42,80 \pm 8,28$ sec, die Unterschiede in beiden Gruppen waren zu diesem Zeitpunkt hoch signifikant ($p < 0,001$). Auch am 6. postoperativen Tag blieben die Unterschiede sehr signifikant ($p < 0,01$). Die gemessene partielle Thromboplastinzeit betrug in Gruppe A $31,89 \pm 4,3$ sec und in Gruppe B $36,9 \pm 3,45$ sec. Bis zum 10. Tag nach der Resektion kam es zu einem leichten Anstieg der PTT in beiden Gruppen (Gruppe A $34,92 \pm 4,85$ sec, Gruppe B $39,43 \pm 10,42$ sec), ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Auch im weiteren Verlauf bis zum 90. postoperativen Tag waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den

beiden Gruppen festzustellen. Bis zum 21. Tag nach der Resektion fielen die PTT-Werte in beiden Gruppen ab, um dann bis zum 90. Tag in Gruppe A leicht anzusteigen (von $31,54 \pm 5,35$ sec auf $34,73 \pm 8,53$ sec) und in Gruppe B weiter abzufallen (von $34,80 \pm 4,09$ sec auf $31,20 \pm 2,68$ sec).

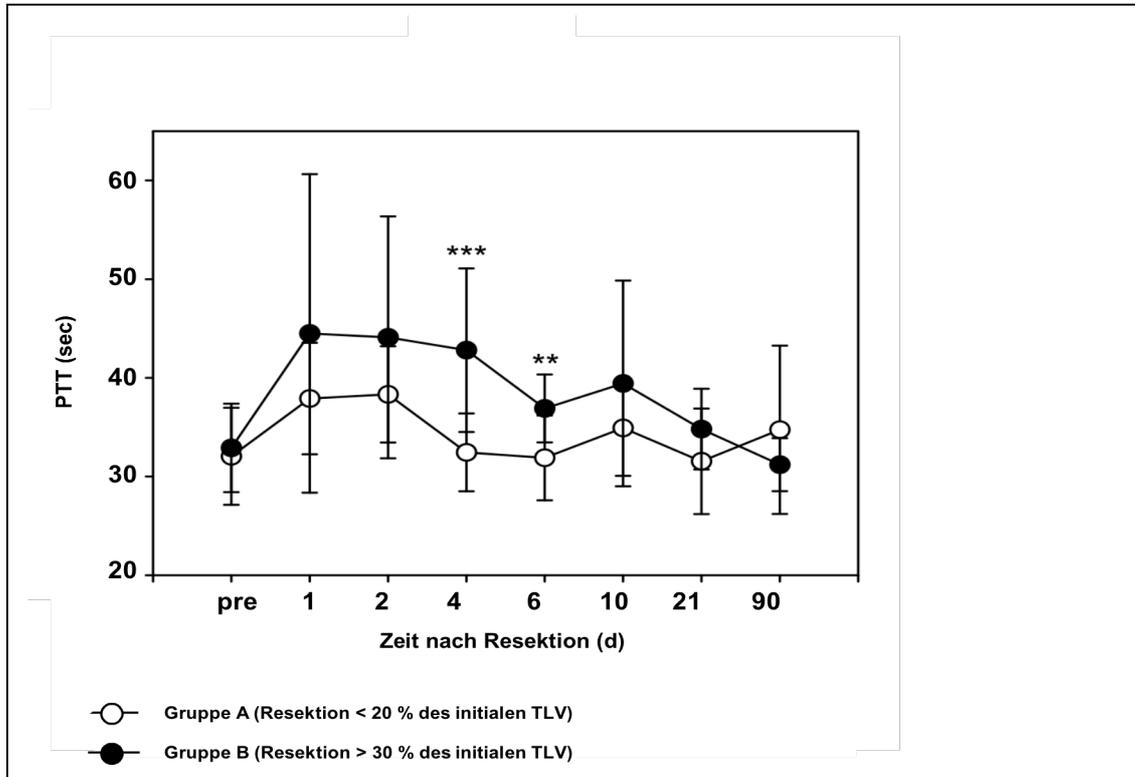


Abbildung 26: Partielle Thromboplastinzeit in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.4.3 Marker der hepatischen Funktion und der hepatozellulären Schädigung

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Blutwerte und deren Standardabweichungen sind graphisch in Abbildungen 27 bis 31 dargestellt. Gruppe A beinhaltet die Blutwerte der Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

Bilirubin

Präoperativ betrug Bilirubinkonzentration in Gruppe A $0,66 \pm 0,44$ mg/dl und $1,13 \pm 1,1$ mg/dl in Gruppe B (Abb.27). Im weiteren Verlauf blieb die Bilirubinkonzentration in Gruppe A annähernd unverändert, während sie in Gruppe B anstieg und am ersten Tag nach der Resektion $3,16 \pm 1,73$ mg/dl betrug, somit wurde zu diesem Zeitpunkt ein sehr signifikanter Unterschied beobachtet ($p < 0,01$). Am zweiten postoperativen Tag war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen hoch signifikant ($p < 0,001$), die Bilirubinkonzentration betrug in Gruppe A $1,37 \pm 0,71$ mg/dl und in Gruppe B $3,36 \pm 2,23$ mg/dl. Auch am 4. und am 6. postoperativen Tag blieben die Unterschiede in beiden Gruppen sehr signifikant ($p < 0,01$). Die Bilirubinkonzentrationen betragen am 4. postoperativen Tag $1,06 \pm 0,88$ mg/dl (Gruppe A) und $2,88 \pm 2,18$ mg/dl (Gruppe B), am 6. postoperativen Tag $1,01 \pm 0,81$ mg/dl (Gruppe A) bzw. $3,73 \pm 3,88$ mg/dl (Gruppe B). Im weiteren Verlauf fiel die Bilirubinkonzentration in Gruppe B weiterhin ab, bis sie den Wert von $2,48 \pm 4,23$ mg/dl drei Monate nach der Resektion erreichte. In Gruppe A blieben die Bilirubinwerte weitgehend unverändert, die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren nicht mehr signifikant.

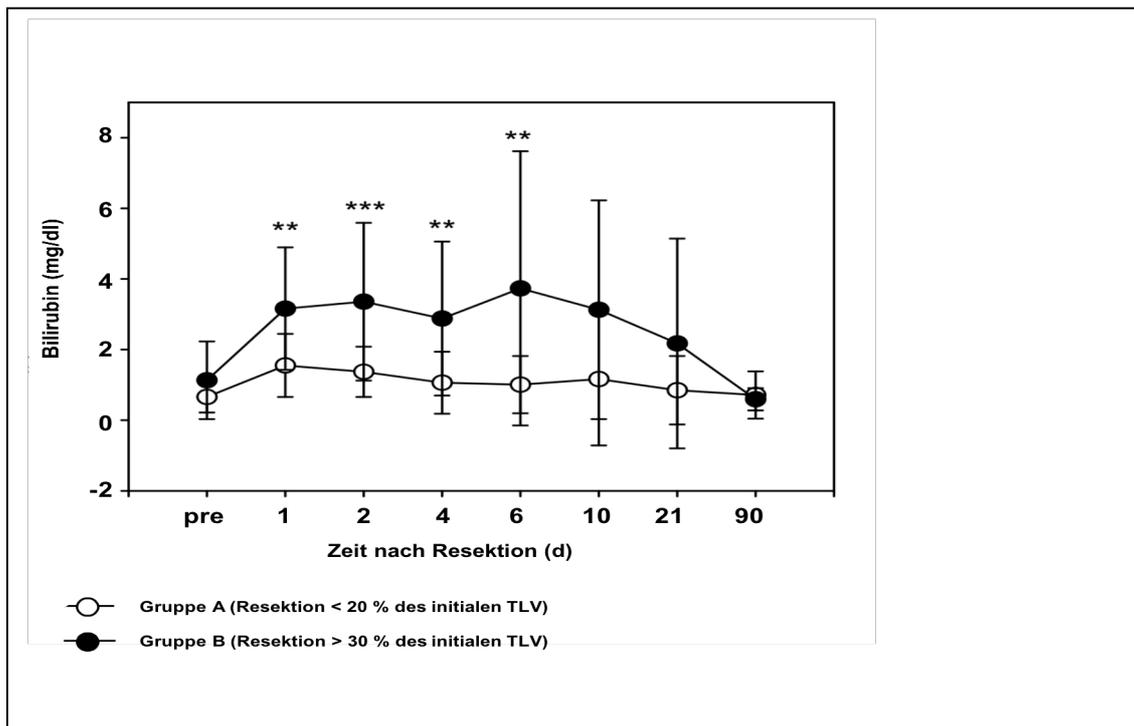


Abbildung 27: Bilirubinkonzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, * $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.**

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Die Konzentrationen der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) verhielten sich in beiden Gruppen im Beobachtungszeitraum ähnlich und es wurden keine signifikanten Unterschiede beobachtet (Abb.28). Zum Zeitpunkt vor der Resektion betrug die GOT-Konzentrationen in Gruppe A $36,65 \pm 20,33$ U/l und in Gruppe B $106,67 \pm 178,59$ U/l. Einen Tag nach der Resektion stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen stark an und betrug $478,60 \pm 327,95$ U/l in Gruppe A und $839,40 \pm 812,21$ U/l in Gruppe B. Bereits am zweiten postoperativen Tag fielen die Konzentrationen in beiden Gruppen jeweils auf knapp die Hälfte und glichen sich am vierten Tag nach der Resektion wieder an ($78,45 \pm 35,01$ U/l Gruppe A und $94,40 \pm 59,32$ U/l Gruppe B). Bis zum 90. Tag nach der Resektion blieben die GOT-Konzentrationen in beiden Gruppen annähernd gleich.

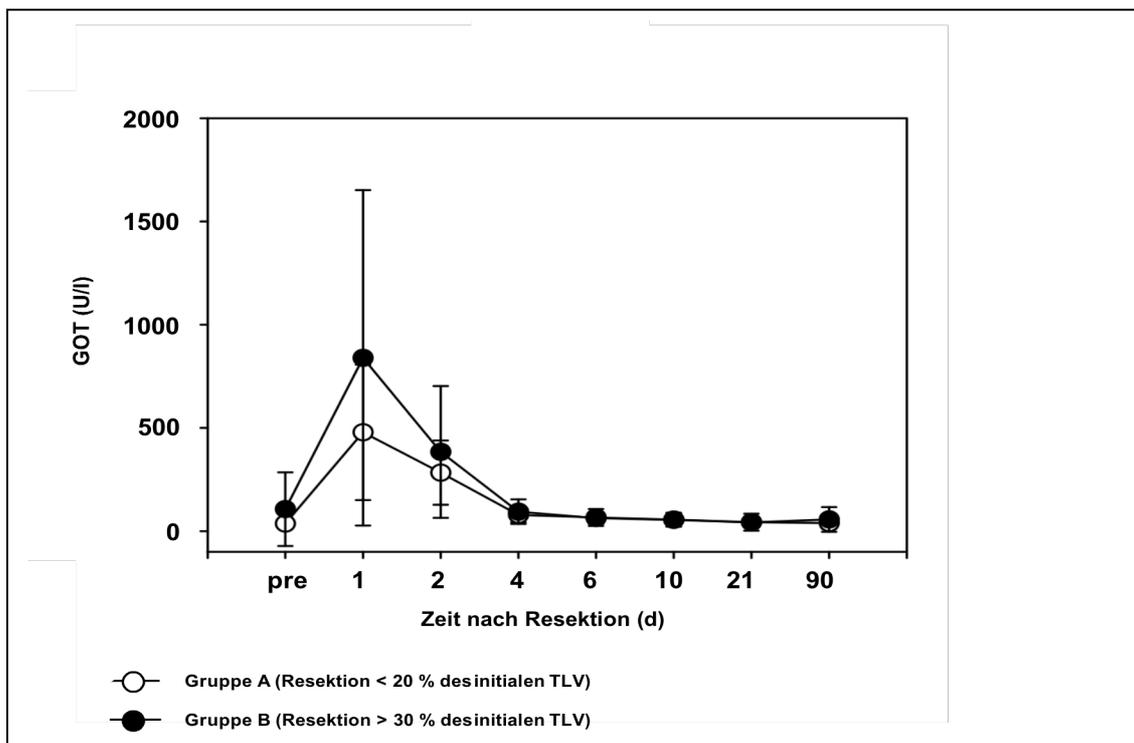


Abbildung 28: GOT-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion.

Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Ähnlich wie die GOT verhielten sich auch die Glutamat-Pyruvat-Transaminase-Konzentrationen (GPT), dargestellt in Abbildung 29. Die Unterschiede waren nicht signifikant. Präoperativ betrug die GPT-Konzentration in Gruppe A $33,20 \pm 21,91$ U/l und in Gruppe B $40,11 \pm 20,73$ U/l. Am ersten postoperativen Tag kam es in beiden Gruppen zu einem massiven Anstieg der Glutamat-Pyruvat-Transaminase, in Gruppe A wurden $406 \pm 304,04$ U/l und in Gruppe B $401,20 \pm 324,45$ U/l gemessen. Bereits am zweiten Tag nach der Resektion fielen die Konzentrationen in beiden Gruppen ab ($372,63 \pm 259,07$ U/l in Gruppe A und $302,56 \pm 276,49$ U/l in Gruppe B) und zeigten bis zum 90. Tag nach der Resektion einen ähnlichen Verlauf. Am Ende der Beobachtungszeit fielen die GPT-Konzentrationen wieder auf die Anfangswerte ab und betragen in Gruppe A $30,69 \pm 26,55$ U/l und in Gruppe B $32,80 \pm 29,7$ U/l.

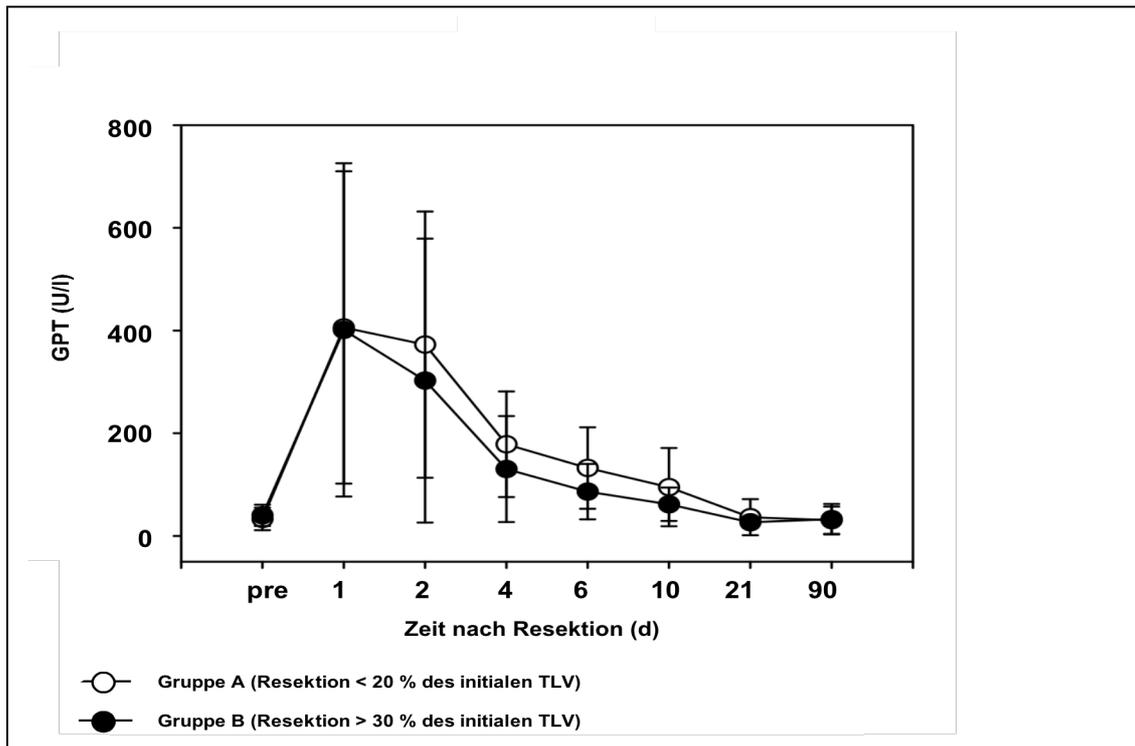


Abbildung 29: GPT-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion.

Gamma-Glutamyltransferase

Die gemessenen Werte der Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT / GGT) zeigten in beiden Gruppen einen vergleichbaren Verlauf (Abb.30). Es waren keine signifikanten Unterschiede zu verzeichnen. Am ersten Tag nach der Resektion fielen die γ -GT-Konzentrationen in beiden Gruppen ab (von $101,84 \pm 168,73$ U/l präoperativ auf $50,45 \pm 58,44$ U/l in Gruppe A und von $197,67 \pm 177,96$ U/l präoperativ auf $95,60 \pm 142,98$ U/l in Gruppe B) und blieben bis zum nächsten Tag weitgehend konstant. Ab dem zweiten Tag nach der Resektion war in Gruppe A ein Anstieg der γ -GT-Konzentration zu beobachten, der bis zum 10. Tag anhielt und $212,88 \pm 178,35$ U/l betrug. In Gruppe B kam es ab dem 4. Tag nach der Resektion zu einem Anstieg der γ -GT-Konzentration, sie erreichte am 10. Tag ebenfalls ihr Maximum ($259,86 \pm 258,02$ U/l). Im weiteren Verlauf kam es in beiden Gruppen zu einem Abfall der γ -GT-Konzentration und deren Normalisierung 90 Tage nach der Resektion (Gruppe A $92,69 \pm 169,34$ U/l; Gruppe B $191 \pm 283,24$ U/l).

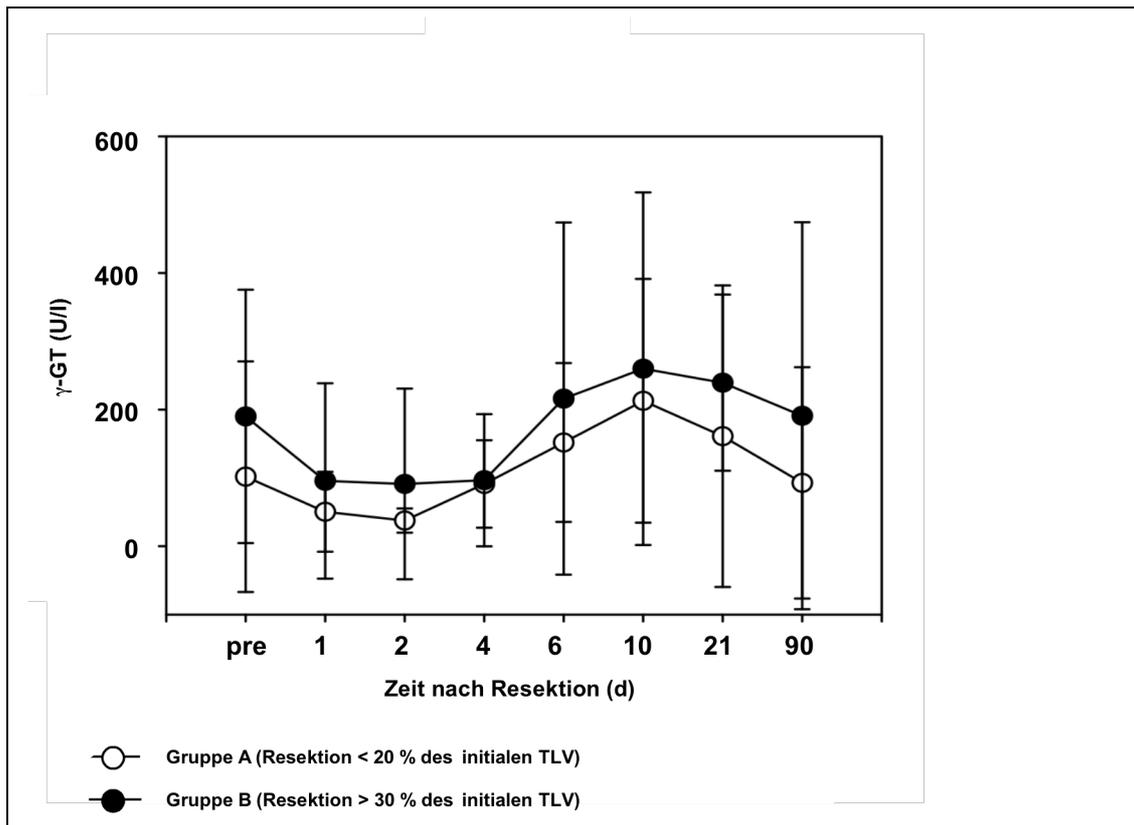


Abbildung 30: γ -GT-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion.

Alkalische Phosphatase

Wie in Abbildung 31 dargestellt unterschieden sich die gemessenen Werte der alkalischen Phosphatase (AP) nur präoperativ sehr signifikant ($p < 0,01$). In Gruppe A betrug der Ausgangswert $95,05 \pm 44,65$ U/l und in Gruppe B $166,71 \pm 29,04$ U/l. Zunächst kam es in beiden Gruppen zu einem Abfall der gemessenen AP-Konzentration, in Gruppe A auf $60,84 \pm 21,50$ U/l und in Gruppe B auf $87,38 \pm 48,38$ U/l. Auch am zweiten postoperativen Tag blieben die Werte in beiden Gruppen annähernd gleich. Am vierten Tag nach der Resektion glichen sich die Werte an und betragen $105,25 \pm 42,03$ U/l in Gruppe A und $105 \pm 39,68$ U/l in Gruppe B. Bis zum 10. postoperativen Tag wurde in beiden Gruppen ein Anstieg der AP-Konzentration beobachtet. In Gruppe A wurden $165 \pm 89,46$ U/l und in Gruppe B $203 \pm 126,48$ U/l gemessen. Bis zum 90. Tag nach der Resektion gingen die AP-Konzentrationen annähernd auf die Ausgangswerte zurück und betragen in Gruppe A $110,13 \pm 77,51$ U/l und in Gruppe B $174,60 \pm 167,18$ U/l.

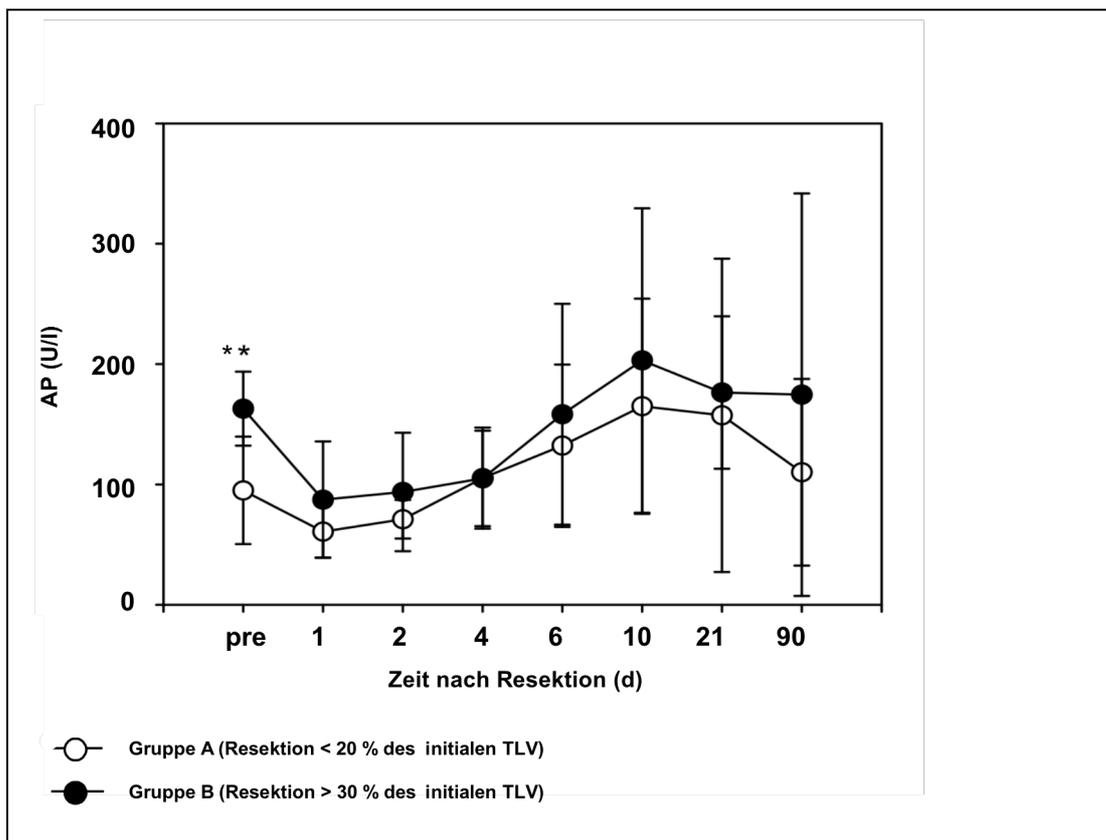


Abbildung 31: AP-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.4.4 Elektrolyte

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Blutwerte und deren Standardabweichungen sind graphisch dargestellt (Abb.32-34). Gruppe A beinhaltet die Blutwerte der Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

Natrium

Wie aus Abbildung 32 ersichtlich war die gemessene Natriumkonzentration (Na^+) in beiden Gruppen vor der Operation annähernd gleich ($140,50 \pm 2,98$ mmol/l in Gruppe A; $139,40 \pm 4,84$ mmol/l in Gruppe B). Sie stieg in den ersten zwei Tagen nach der Resektion vor allem in Gruppe B an, sodass sehr signifikante Unterschiede in beiden Gruppen erreicht wurden ($p < 0,01$). Die Na^+ -Konzentration betrug am zweiten postoperativen Tag $141,67 \pm 3,05$ mmol/l in Gruppe A und $147 \pm 3,03$ mmol/l in Gruppe B. Am vierten Tag nach der

Resektion erreichte die gemessene Na^+ -Konzentration in beiden Gruppen wieder die Ausgangswerte. Zwischen dem 10. und dem 21. postoperativen Tag war in Gruppe B ein leichter Konzentrationsabfall zu beobachten ($134 \pm 6,98$ mmol/l am 21. Tag), die Unterschiede erreichten jedoch nicht das Signifikanzniveau.

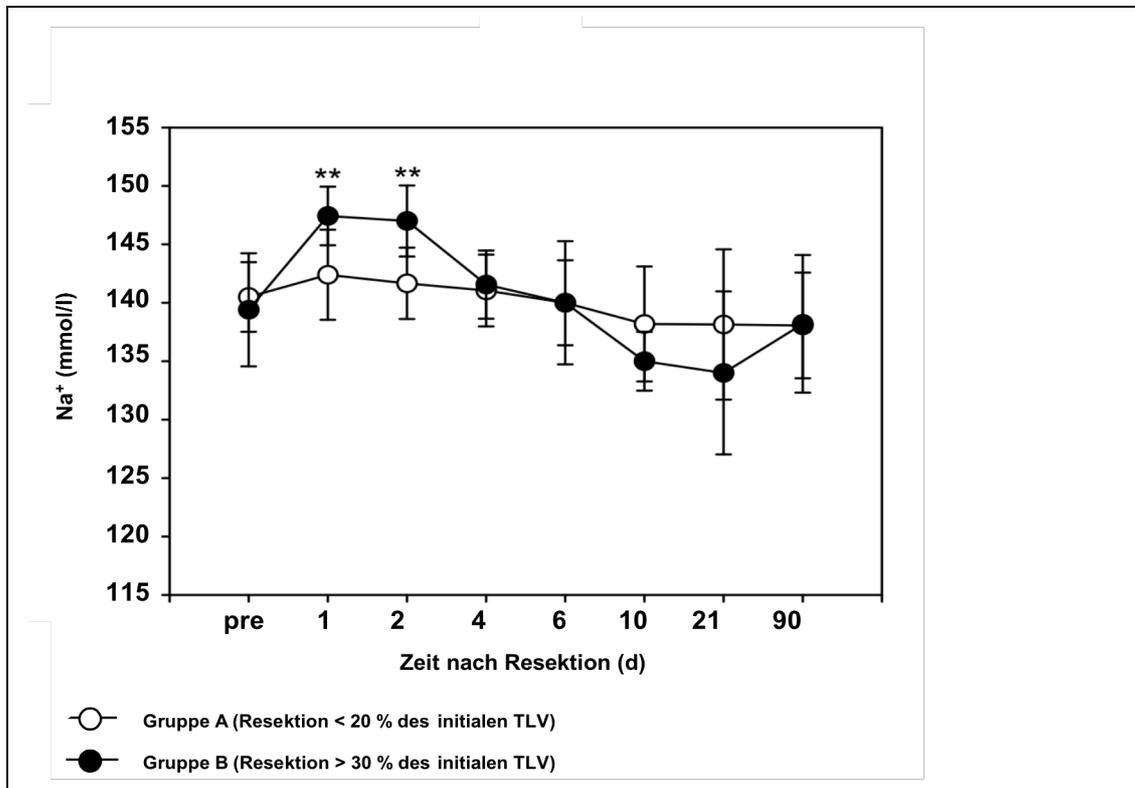


Abbildung 32: Na^+ -Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion; ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Kalium

Präoperativ unterschieden sich die gemessenen Kalium-Konzentrationen (K^+) in beiden Gruppen nicht voneinander ($4,3 \pm 0,39$ mmol/l in Gruppe A und $4,45 \pm 0,97$ mmol/l in Gruppe B), dargestellt in Abbildung 33. Erst am zweiten Tag nach der Resektion kam es in Gruppe A zu einem Konzentrationsabfall ($3,94 \pm 0,46$ mmol/l), während in Gruppe B ein leichter Konzentrationsanstieg zu beobachten war ($4,6 \pm 0,62$ mmol/l). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurden signifikant ($p = 0,011$). Der signifikante Unterschied ($p = 0,011$) war auch am 4. Tag nach der Resektion zu verzeichnen (Gruppe A $3,58 \pm 0,35$ mmol/l; Gruppe B $4,05 \pm 0,61$ mmol/l). Am sechsten Tag nach der Resektion wurde in Gruppe A $3,82 \pm 0,52$ mmol/l und in Gruppe B $3,61 \pm 0,61$ mmol/l

gemessen. Die Unterschiede waren nicht mehr signifikant. Bis zum 90. Tag nach der Resektion stiegen die Werte in beiden Gruppen an bis das Ausgangsniveau annähernd wieder erreicht wurde (Gruppe A $4,35 \pm 0,39$ mmol/l; Gruppe B $4,16 \pm 0,81$ mmol/l).

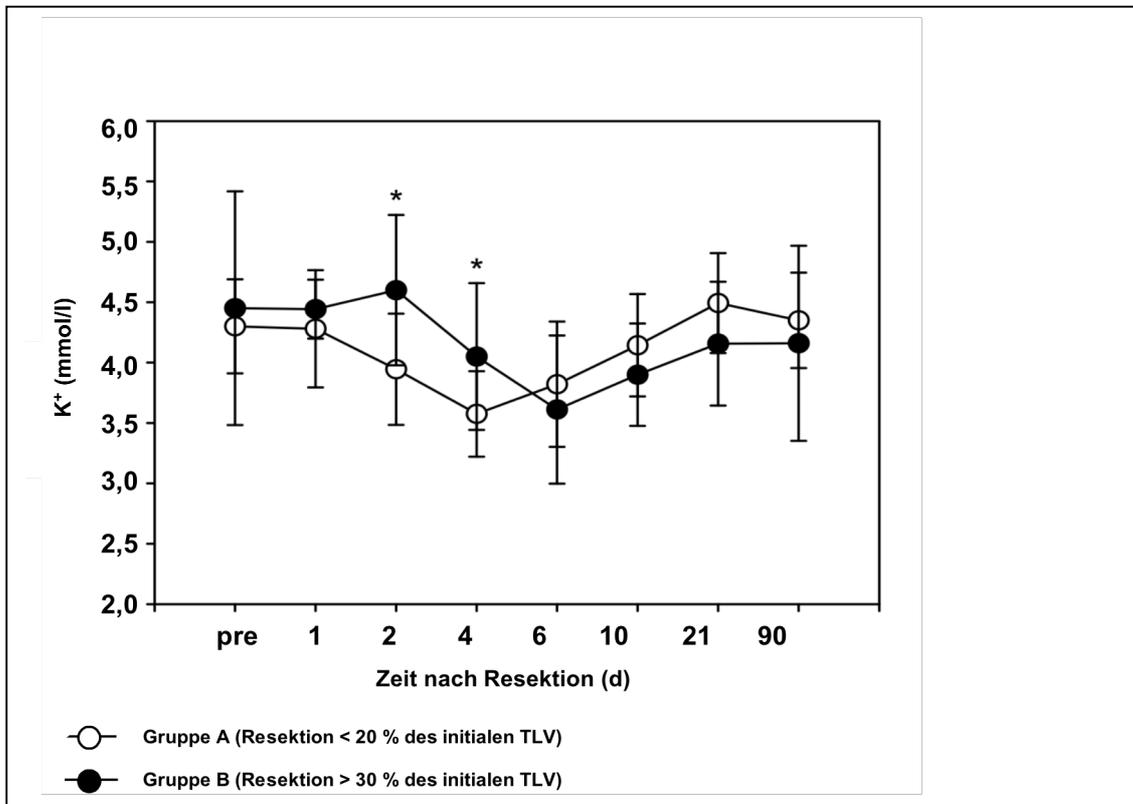


Abbildung 33: K^+ -Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

Kalzium

Bereits am ersten postoperativen Tag war ein signifikanter Unterschied ($p=0,039$) in den Kalzium-Konzentrationen (Ca^{2+}) zwischen den beiden Gruppen zu erkennen (Abb.34). In Gruppe A kam es zu einem Ca^{2+} -Konzentrationsabfall von $2,27 \pm 0,14$ mmol/l auf $2,02 \pm 0,13$ mmol/l und in Gruppe B von $2,22 \pm 0,16$ mmol/l auf $2,15 \pm 0,11$ mmol/l. Am zweiten Tag nach der Resektion war der Unterschied zwischen den beiden Gruppen bereits hoch signifikant ($p < 0,001$), in Gruppe A wurde eine Ca^{2+} -Konzentration von $2,01 \pm 0,08$ mmol/l und in Gruppe B von $2,18 \pm 0,1$ mmol/l gemessen. Bis zum 10. postoperativen Tag stieg die Ca^{2+} -Konzentration in Gruppe A leicht an, während es in Gruppe B zu einem Konzentrationsabfall kam ($2,05 \pm 0,12$ mmol/l in Gruppe A; $1,96 \pm 0,14$ mmol/l in Gruppe B). Die Unterschiede zwischen den

beiden Gruppen waren nicht signifikant. Erst drei Wochen nach der Resektion zeigte sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,01$), in Gruppe A wurden $2,2\pm 0,16$ mmol/l und in Gruppe B $1,99\pm 0,15$ mmol/l gemessen. Bis zum Ende der Messungen, 3 Monate nach der Resektion, glichen sich die Konzentrationen in beiden Gruppen an und erreichten wieder die Ausgangswerte (Gruppe A $2,27\pm 0,06$ mmol/l; Gruppe B $2,28\pm 0,1$ mmol/l).

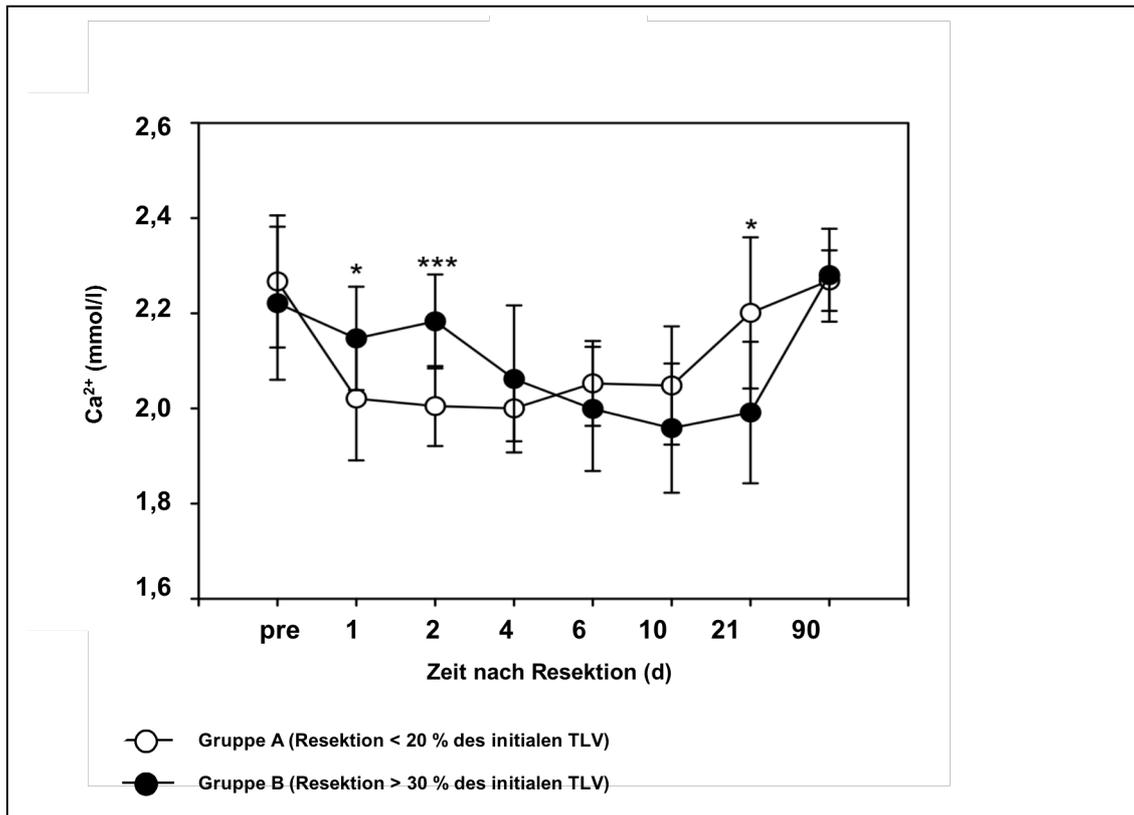


Abbildung 34: Ca^{2+} -Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p<0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** $p<0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.4.5 C-reaktives Protein

Wie in Abbildung 35 dargestellt, waren bereits präoperativ sehr signifikante Unterschiede ($p<0,01$) zwischen den beiden Gruppen bzgl. C-reaktives Proteins (CRP) zu beobachten (Gruppe A $0,72\pm 0,34$ mg/dl; Gruppe B $6,56\pm 6,10$ mg/dl). Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war bis zum zweiten postoperativen Tag sehr signifikant ($p<0,01$). Am ersten Tag nach der Resektion wurde in Gruppe A $7,49\pm 2,76$ mg/dl und in Gruppe B $4,36\pm 2,14$

mg/dl gemessen. Am zweiten postoperativen Tag betrug die CRP-Konzentration in Gruppe A $14,24 \pm 4,91$ mg/dl und in Gruppe B $7,84 \pm 2,59$ mg/dl. Somit waren auch hier die Unterschiede sehr signifikant ($p < 0,01$). Bis zum 6. Tag nach der Resektion fielen die CRP-Konzentrationen in beiden Gruppen ab, stiegen leicht am 10. Tag an und fielen bis zum 90. postoperativen Tag wieder ab (Gruppe A $1,69 \pm 1,48$ mg/dl; Gruppe B $4,6 \pm 4,48$ mg/dl). Die Unterschiede waren nicht mehr signifikant.

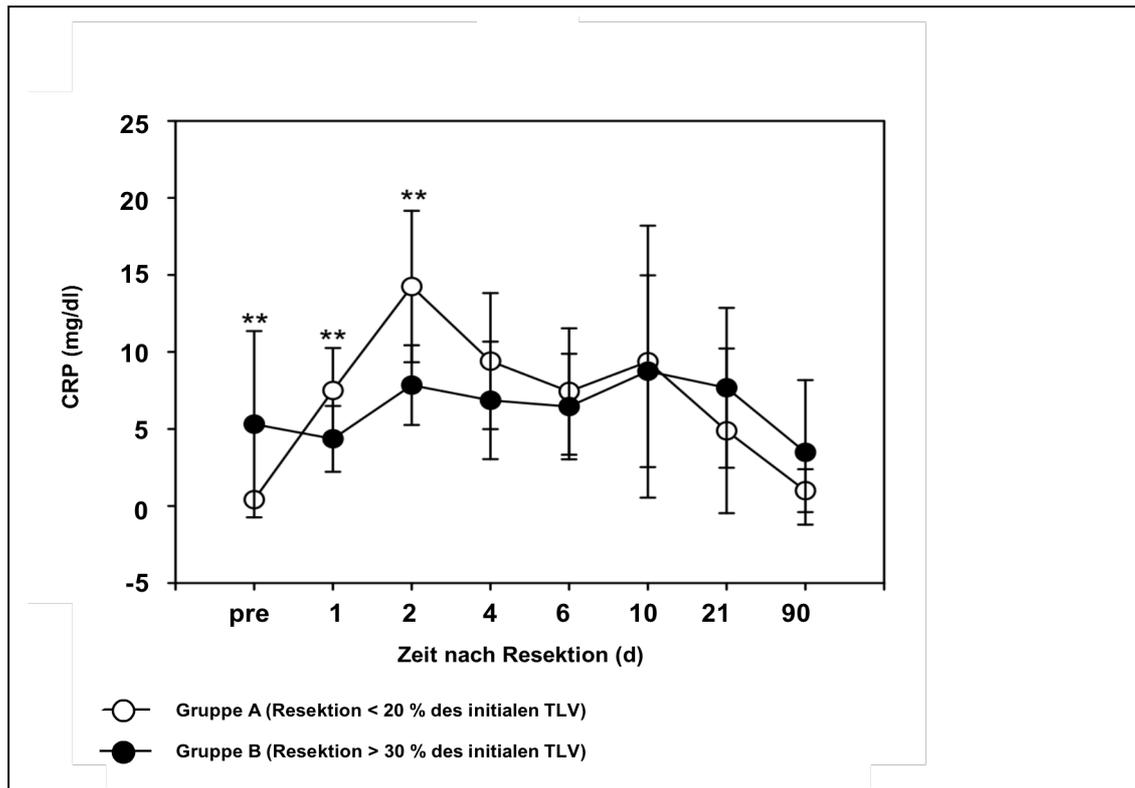


Abbildung 35: CRP-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.4.6 Albumin

Die Albumin-Konzentrationen in beiden Gruppen unterschieden sich präoperativ signifikant ($p = 0,05$) voneinander (Gruppe A $4,14 \pm 0,5$ g/dl; Gruppe B $3,6 \pm 0,67$ g/dl). Der Verlauf im Beobachtungszeitraum war ähnlich (Abb.36). Am ersten Tag nach der Resektion war in beiden Gruppen ein Abfall der Konzentration zu beobachten. In Gruppe A wurde $2,63 \pm 0,44$ g/dl und in Gruppe B $2,26 \pm 0,36$ g/dl gemessen, die Unterschiede erreichten nicht das

Signifikanzniveau. Bis zum 10. postoperativen Tag stiegen die Albumin-Konzentrationen in beiden Gruppen kontinuierlich an. Am 4. Tag nach der Resektion waren die Unterschiede hoch signifikant ($p < 0,001$). Die Albumin-Konzentration betrug in Gruppe A $3,08 \pm 0,25$ g/dl und in Gruppe B $2,5 \pm 0,51$ g/dl. Am 6. postoperativen Tag wurden sehr signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) zwischen den beiden Gruppen beobachtet (Gruppe A $3,2 \pm 0,37$ g/dl; Gruppe B $2,68 \pm 0,49$ g/dl). Am 10. postoperativen Tag kam es in Gruppe A zu einem etwas stärkeren Anstieg der Albumin-Konzentration, sodass zu diesem Zeitpunkt hoch signifikante Unterschiede zu verzeichnen waren ($p < 0,001$). In Gruppe A wurden $3,31 \pm 0,32$ g/dl und in Gruppe B $2,69 \pm 0,4$ g/dl gemessen. Auch noch drei Wochen nach der Resektion waren die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sehr signifikant ($p < 0,01$), in Gruppe A betrug die Albumin-Konzentration $3,54 \pm 0,72$ g/dl und in Gruppe B $2,59 \pm 0,58$ g/dl. Drei Monate nach der Resektion glichen sich die Konzentrationen in beiden Gruppen wieder an (Gruppe A $3,99 \pm 0,56$ g/dl; Gruppe B $3,98 \pm 0,52$ g/dl).

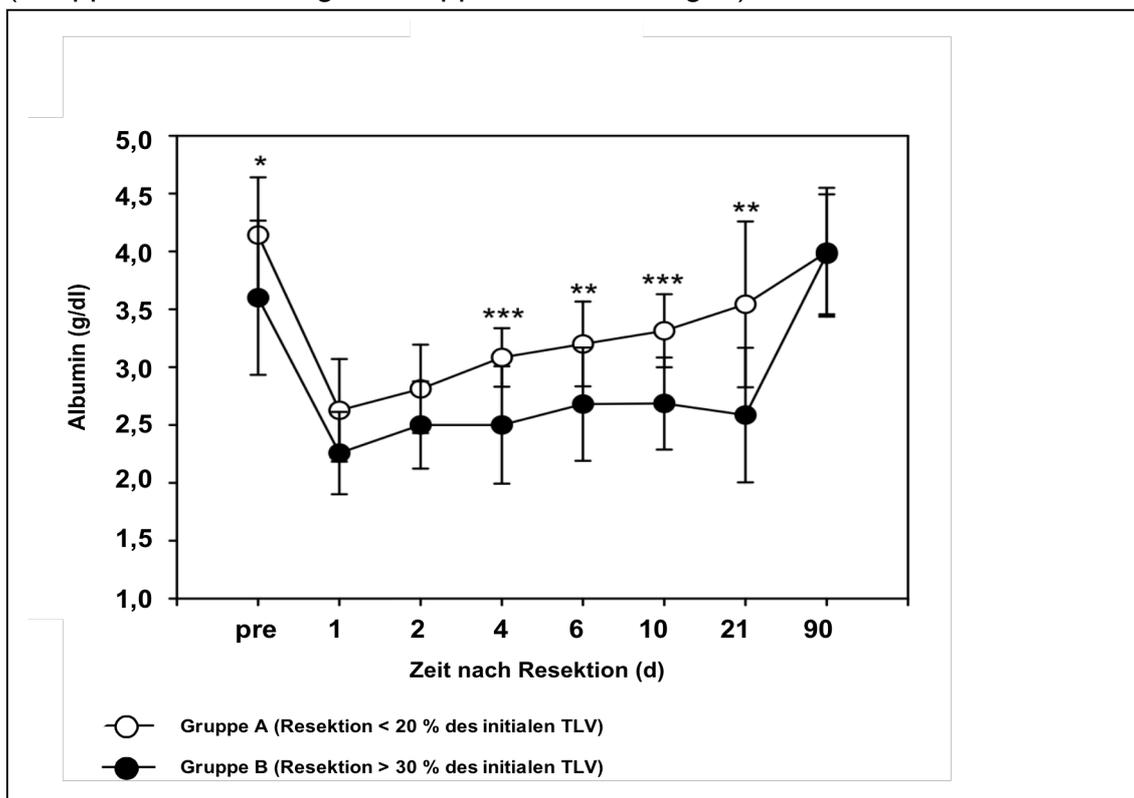


Abbildung 36: Albumin-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. * $p < 0,05$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

3.5 Plasmaverschwinderate von ICG und deren Korrelation mit dem Ausmaß der Leberresektion

Die nichtinvasive Messung der ICG-Plasmaverschwinderate (PDR) wird zur Messung der Leberfunktion eingesetzt, sie reflektiert die Elimination von ICG durch die Leber. Die Referenzwerte für die PDR betragen 18-25 %/min. Ein Abfall der ICG-PDR deutet auf eine Verschlechterung der Leberfunktion hin.

Die Mittelwerte der zu verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Plasmaverschwinderaten von ICG und deren Standardabweichungen sind in der Abbildung 37 graphisch dargestellt. Gruppe A beinhaltet die Plasmaverschwinderate gemessen bei Patienten mit einem Leberresektionsvolumen unter 20%, Gruppe B die mit einem über 30%.

Am ersten Tag nach der Resektion waren hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) zwischen den beiden Gruppen zu verzeichnen. In Gruppe A stieg die gemessene Plasmaverschwinderate von $17,84 \pm 9,19$ %/min auf $20,84 \pm 9,17$ %/min an, in Gruppe B fiel sie von $9,77 \pm 4,45$ %/min auf $8,25 \pm 1,67$ %/min ab. Am zweiten postoperativen Tag betrug die PDR in Gruppe A $19,7 \pm 8,71$ %/min und in Gruppe B $8,91 \pm 5,42$ %/min. Damit waren die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen auch hier hoch signifikant ($p < 0,001$). Dieses Signifikanzniveau blieb bis einschließlich dem sechsten Tag nach der Resektion bestehen. Zu diesem Zeitpunkt wurde in Gruppe A eine Plasmaverschwinderate von $19,98 \pm 8,37$ %/min und in Gruppe B von $9,91 \pm 4,45$ %/min gemessen. Bis zum 10. Tag nach der Resektion sank die PDR in Gruppe A leicht ab ($19,55 \pm 7,82$ %/min), während sie in Gruppe B leicht anstieg ($10,73 \pm 6,96$ %/min). Die gemessenen Werte unterschieden sich sehr signifikant ($p < 0,01$).

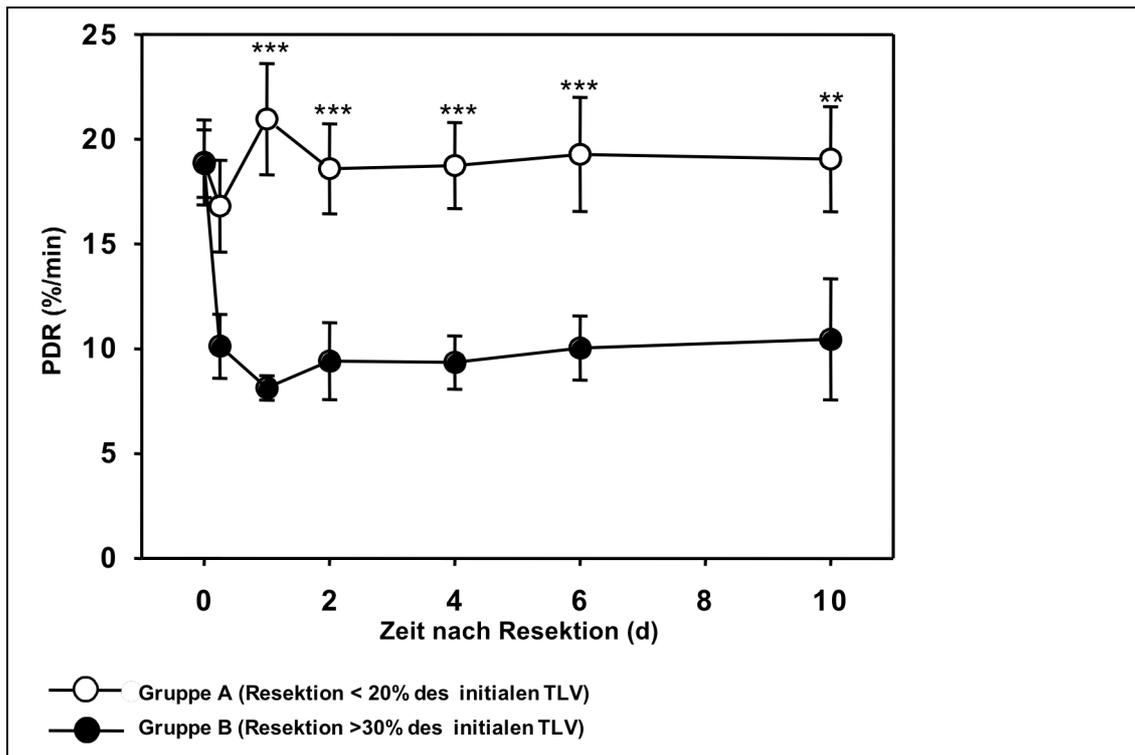


Abbildung 37: PDR in Abhängigkeit von der Zeit nach Resektion. Dargestellt sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen zum jeweiligen Zeitpunkt im Verhältnis zum Zeitpunkt der Resektion. ** $p < 0,01$ zwischen Gruppe A und Gruppe B, *** $p < 0,001$ zwischen Gruppe A und Gruppe B.

4 Diskussion

Die Inzidenz von malignen Lebertumoren hat in den letzten Jahrzehnten stark zugenommen (80, 81). Gerade bei Tumorerkrankungen, nicht nur ausgehend von Leberzellen (hepatozelluläres Karzinom, cholangiozelluläres Karzinom), sondern auch bei Lebermetastasen anderer Tumorentitäten, ist die Leberresektion eine der wichtigsten therapeutischen Methoden. Experimentelle Daten haben in den letzten Jahren eine wachsende Zahl von klinischen Untersuchungen zur Stammzelltherapie diverser Pathophysiologien des Menschen stimuliert. Die pathophysiologischen Grundlagen, die die Regeneration der Leber steuern, werden seit Jahren erforscht, sind aber in ihrem Zusammenspiel immer noch nicht vollständig verstanden (16, 21, 55, 70, 82).

In der vorliegenden Arbeit wollten wir einen näheren Einblick in die der Leberregeneration zu Grunde liegenden Prozesse erhalten und die Korrelation zwischen Ausmaß der Leberresektion, Leberfunktion, Höhe und Kinetik der Zytokine im peripheren Blut und der peripheren CD133⁻- bzw. CD34⁺-Stammzellmobilisation aufzeigen.

In die Studie wurden 30 Patienten eingeschlossen, die sich einer Leberteilektomie unterzogen. Die Resektionsraten betragen bis zu 65% und wurden mittels computertomographischer Volumetrie exakt bestimmt, genauso wie das postoperative Leberwachstum. Die Patienten wurden in zwei Gruppen eingeteilt, Gruppe A mit einem resezierten Leberanteil von < 20% und Gruppe B mit 30-65% Resektionsvolumen. Die Patienten wurden 3 Monate lang nach der Resektion beobachtet. In dieser Zeit wurde das Aufkommen an CD45⁺/133⁻- und CD45⁺/34⁺-Zellen gemessen sowie die Konzentrationen der Stammzelllockstoffe HGF, SDF-1, IGF-1 und SCF bestimmt. In regelmäßigen Zeitabständen erfolgte die Leberfunktionsprüfung mit Hilfe der LiMON-Technologie und die Bestimmung verschiedener globaler Laborparameter.

Es ist bekannt, dass die Leberregeneration nach einer Leberteilektomie eher durch eine kompensatorische Hyperplasie als durch eine richtige Wiederherstellung der Leberanatomie und Leberarchitektur erfolgt (21, 83). Es stellt sich allerdings die Frage, wie sich die Leberfunktion nach einer

Leberteilresektion verändert und ob sie komplett wiederhergestellt wird. Es ist erstaunlich wie die Leber sich nach traumatischer, chemischer oder toxischer Schädigung regenerieren kann. Die Ausdauer und Intensität der Reparationsvorgänge der Leber sind mit dem hämatopoetischen System vergleichbar.

Nicht nur Hepatozyten sind wesentlich an der Leberregeneration beteiligt. Kürzlich veröffentlichte Berichte deuten darauf hin, dass die Knochenmark-Stammzellen und die hämatopoetischen Stammzellen an der hepatischen Proliferation und Regeneration beteiligt sind (16, 18, 34, 39, 42, 44, 46, 55, 70). Seit dem Jahr 2000 haben mehrere Studien gezeigt, dass die Knochenmarkzellen die Fähigkeit haben, sich zur Leber zu bewegen und sich in funktionierende Hepatozyten umzuwandeln (39, 44, 46, 84). Außerdem werden sie nach partiellem Verlust von Lebergewebe infolge einer partiellen Hepatektomie peripher mobilisiert.

Die genauen Mechanismen, die zur Leberregeneration führen und die Umgebungsfaktoren, die die Mobilisierung und das Homing der adulten Stammzellen initiieren, sind immer noch nicht eindeutig identifiziert. Es ist allerdings gezeigt worden, dass die Anzahl von peripheren hämatopoetischen Stammzellen nach ausgedehnter Leberteilresektion um bis zu zehnmals höher ist im Vergleich zu einer großen abdominalen Operation ohne Leberteilresektion (47). Wang konnte zeigen, dass hepatisches Einnisten von extrahepatischen Vorläuferzellen nach einer Leberschädigung ausgeprägter als im ruhenden Lebergewebe ist (38, 52).

Wir konnten in der vorliegenden Studie den Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Leberresektion und der peripheren Mobilisation von CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen zeigen. Diese Ergebnisse korrelierten mit noch früheren Daten, die eine Erhöhung der CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen nach ausgedehnten Leberresektionen zeigten. Zwölf Stunden nach der Resektion zeigte sich ein signifikanter Anstieg der im peripheren Blut zirkulierenden CD133⁺-Stammzellen (48). Wir haben die Expression der CD45⁺/CD34⁺- und CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen in den ersten 90 Tagen nach der Leberresektion beobachtet und durchflusszytometrisch gemessen. Die Verläufe der beiden Stammzellpopulationen waren ähnlich. Die Daten zeigen, dass nach größeren Resektionen (über 30%) mehr Stammzellen peripher mobilisiert wurden,

verglichen mit den Patienten mit einem Volumenverlust unter 20%. Die Kinetik der beiden Gruppen war ähnlich, das Ausmaß des Konzentrationsanstiegs war bei den größeren Resektionen um ein mehrfaches größer als bei Resektionen mit dem resezierten Leberanteil von weniger als 20%. Somit konnten wir zeigen, dass die Ausschüttung von CD133⁺-Stammzellen vom Ausmaß der Leberteileresektion abhängig ist; dies geht mit der Beobachtung anderer Autoren einher (85). Ein größerer Reiz, in dem Fall eine größere Leberteileresektion, scheint somit eine höhere Ausschüttung an Stammzellen mit sich zu bringen, die wiederum die Regenerationskaskade in Gang setzt.

Die Leberregeneration wird erst ab einem Verlust von etwa 10% Lebergewebe induziert und erfolgt kontrolliert. Nach der Leberresektion regeneriert sich die Leber bis das Ausgangsvolumen von $\pm 15\%$ erreicht wird. Zocco et al. teilten in ihrer Studie die Leberteileresektionen in „große“ und „kleine“ ein, ohne das resezierte Lebervolumen volumetrisch zu erfassen und eine genaue Definition der Gruppen vorzunehmen (85). In unserer Studie verwendeten wir aus diesem Grund nicht die anatomische Einteilung, sondern die CT-Volumetrie zur genauen Bestimmung des resezierten Lebervolumens.

Die Leberregeneration wird stimuliert durch eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren (20). In der vorliegenden Studie untersuchten wir das Verhalten mehrerer Zytokine und konnten zeigen, dass sie wichtige Mediatoren für eine adäquate HSC-Mobilisation im Rahmen einer Leberregeneration vor allem nach einer großen Leberteileresektion sind.

Interessant waren unsere Beobachtungen bezüglich der im Blut gemessenen Zytokinkonzentrationen, wie HGF, SDF-1, IGF-1 und SCF, die das Homing und die Rekrutierung der CD133⁺-Stammzellen und somit die Leberregeneration fördern (22, 68-70, 86, 87).

HGF ist der bekannteste und wichtigste Wachstumsfaktor der Leberzellen in vivo wie auch in vitro. HGF ist ebenfalls an der Leberregeneration beteiligt und verantwortlich für die Wanderung der CD34⁺-Stammzellen (70, 72).

Unsere Ergebnisse zeigen einen signifikanten Anstieg der HGF-Konzentration innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Resektion, der Anstieg war in der Gruppe mit dem größeren Volumenverlust stärker ausgeprägt. Daraus

schlossen wir, dass eine ausgedehntere Resektion einen größeren Reiz darstellt und damit die Leberregeneration schneller vorangetrieben wird. Nach den ersten 24 Stunden nach der Resektion sank die HGF-Konzentration wieder ab. Mehrere Studien zeigten, dass nach einer Leberschädigung die Konzentration von HGF im Serum ansteigt (88, 89). So zeigten Lindroos et al., dass HGF etwa 1 Stunde nach partieller Hepatektomie in Ratten auf das 20-fache der Norm ansteigt und nach 72 Stunden wieder auf Normalwerte abfällt (73). Ähnliche Ergebnisse mit einem Anstieg von HGF nach Leberresektion wurden auch von Tomiya bei Menschen berichtet (74). Auch Zocco beschrieb einen Anstieg der Serumkonzentrationen von HGF und G-CSF nach Leberteileresektion, der Anstieg war ebenfalls nach größeren Resektionen stärker als nach einem geringeren Lebervolumenverlust und bei einer vorgeschädigten Leber stärker als bei einer gesunden (85).

Zudem konnten wir in der vorliegenden Studie zeigen, dass die HGF-Konzentrationen null, sechs und 24 Stunden nach Leberteilentfernung unabhängig vom Ausmaß der Resektion mit der peripheren Mobilisation von CD34⁺- und CD133⁺-Zellen in den ersten beiden postoperativen Tagen korrelierten. Daraus schlossen wir, dass der Resektionsreiz eine Ausschüttung von HGF fördert, der wiederum eine Stammzellmobilisation etwas später mit sich bringt. He et al. zeigten, dass sich die hepatischen Progenitorzellen in Anwesenheit von EGF und HGF in vitro zu Hepatozyten differenzieren können (90).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die positive Korrelation von HGF im Serum mit peripher mobilisierten Progenitorzellen für einen mobilisierenden Effekt von CD133⁺- und CD34⁺-Zellen nach partieller Hepatektomie für HGF spricht. Ein möglicher therapeutischer Nutzen von HGF im Rahmen von Szenarien der Leberregeneration mit Stammzellbeteiligung muss allerdings in weiteren experimentellen Studien untersucht werden.

Ähnlich zu HGF verhielten sich in unserer Studie auch die Werte für SDF-1 und die IGF-1. Es wurde ein Anstieg drei bis sechs Stunden nach Leberteileresektion beobachtet. In der Gruppe mit dem Lebervolumenverlust über 30% war er stärker ausgeprägt als nach kleineren Resektionen.

SDF-1 ist der erste beschriebene Lockstoff der humanen CD34⁺ hämatopoetischen Stammzellen. Eine Veränderung der SDF-1-Konzentration ist mit der Mobilisation der CD34⁺-Progenitorzellen assoziiert (91, 92). Dies zeigte sich sowohl in vivo als auch in vitro (70). Aiuti et al. zeigten, dass SDF-1 ein Chemokin der CD34⁺-Stammzellen ist (93). Auch unsere Ergebnisse zeigten einen Anstieg der SDF-1-Konzentration unmittelbar nach der Resektion und deren Abfall in den ersten sechs postoperativen Stunden.

Wir konnten in unserer Studie eine positive Korrelation zwischen der SDF-1-Konzentration im Blut zum Zeitpunkt der Resektion und der CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung nachweisen. Auch Gehling et al. zeigten eine signifikante positive Korrelation zwischen der SDF-1-Konzentration und der Höhe von CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen im Blut (94).

Die geschädigte Leber zeigt somit eine verstärkte Expression von SDF-1, was wiederum CD133⁺-Stammzellen anlocken kann. CD133⁺-Knochenmarkstammzellen folgen vermutlich einem SDF-1-Gradienten und können somit, nach ihrer Mobilisation ins periphere Blut, an der Leberregeneration teilhaben. Dies wurde auch von Ratajczak et al. berichtet (75). Dieser Mechanismus ist allerdings nicht leberspezifisch, Ähnliches wurde für ischämische Muskulatur (95), geschädigtes Nervengewebe (96), die Niere (97) und die Lunge (98) beschrieben.

IGF spielt bei vielen Schritten der Proliferation, Mitoseinduktion, Differenzierung, Angiogenese und Wachstum eine wichtige Rolle (99, 100).

In unserer Studie war drei Stunden nach der Resektion ein Anstieg der IGF-1-Konzentration zu beobachten. Dieser war in der Gruppe mit dem größeren Lebervolumenverlust stärker ausgeprägt. Dies lässt vermuten, dass das größere operative Trauma eine verstärkte IGF-1-Expression zur Folge hat. Diese wiederum kann die Stammzellmobilisation fördern und somit die Leberregeneration vorantreiben.

IGF wird hauptsächlich in der Leber synthetisiert und seine Konzentration hängt von der Höhe der Wachstumshormone ab; sie ist gering bei der Geburt, steigt in Kindheit und Pubertät an und nimmt ab dem 20. Lebensjahr wieder ab (100). Auch Gehling et al. konnten zeigen, dass die Zahl der CD133⁺-Progenitorzellen mit dem Alter der Patienten korreliert (94). Dies wurde mit der Tatsache erklärt,

dass im Alter der Pool an hämatopoetischen Knochenmark-Stammzellen und Progenitorzellen sinkt (101).

Neben HGF, SDF-1 und IGF-1 lag unser Augenmerk auf der SCF-Konzentration nach der Resektion.

SCF spielt eine Schlüsselrolle in der Stimulation von HSC-Proliferation und deren Mobilisation (102). Es reguliert die Differenzierung von CD34⁺-Stammzellen und anderen Faktoren wie EPO, G-CSF und GM-CSF (103). CSFs sind an der entzündlichen Reaktion der Leber und der Leberregeneration beteiligt (104). Meng et al. beobachteten einen signifikanten stabilen Anstieg von SCF in den ersten sieben Tagen nach einer Leberteilresektion (105). Unsere Arbeitsgruppe zeigte in einer früheren Studie, dass nach einer erweiterten Leberteilresektion höhere SCF-Konzentrationen im Vergleich zu einer kleineren Resektion beobachtet werden (22).

Auch in der aktuellen Studie konnten wir einen leichten Anstieg der SCF-Konzentration beobachten, der in der Gruppe mit dem größeren Lebervolumenverlust etwas stärker ausgeprägt war, ohne sich dabei signifikant zu unterscheiden. Dies könnte mit der Tatsache erklärt werden, dass wir in unserer Studie das resezierte Lebervolumen exakter mit Hilfe der CT-Volumetrie bestimmten und nicht nur die Einteilung in „groß“ und „klein“ wählten. Eine Korrelation zu den Stammzellkonzentrationen im Blut konnten wir nicht feststellen. Laut Baccarani et al. wird der Serumspiegel von SCF durch die Leberschädigung beeinflusst (76), somit könnten die Unterschiede in beiden Gruppen erklärt werden. Ren et al. berichteten von einer geringen SCF-Expression in der Leber, aber von einem signifikanten Anstieg der SCF-Konzentration im Serum in einem Mausmodell (106). In Anlehnung an unsere Daten glauben wir, dass SCF selbst geringe Mobilisationseigenschaften besitzt, aber eine wichtige Rolle für das Homing innerhalb der Leber spielt.

In der vorliegenden Studie konnten wir zeigen, dass die Zytokine wie HGF, SDF-1, IGF-1 sowie SCF früh nach vor allem ausgedehnten Formen hepatischer Resektionen vermehrt ins Serum ausgeschüttet werden und mit der Mobilisation der Stammzellen und damit der postoperativen Leberregeneration assoziiert sind.

Zur Vermeidung des Leberversagens nach Resektion ist die Beurteilung des nach einer Resektion verbleibenden funktionellen Restgewebes von großer Bedeutung. Bei einer nicht vorgeschädigten Leber mit normaler Synthese- und Exkretionsfunktion sind etwa 25-30% des funktionellen Lebervolumens als Richtgröße für das zu belassende Leberparenchym anzusehen (107). Bei vorgeschädigten Organen mit eingeschränkter Leberfunktion, z.B. bei begleitender Leberfibrose, Leberverfettung, aber auch nach chemotherapeutischer Behandlung, sollte das Restlebervolumen mindestens 40% betragen (108).

Die Resektion von funktionellem Leberparenchym bringt immer das Risiko einer postoperativ verringerten Leberfunktion und im schlimmsten Fall einer unzureichenden Regenerationskapazität des verbleibenden Leberparenchyms mit Leberversagen mit sich. Ein besonders radikales chirurgisches Vorgehen reduziert zwar das Risiko eines möglichen Tumorrezidivs, ist jedoch mit einer erhöhten Rate an postoperativem Leberversagen mit hoher Mortalität assoziiert (109). Daher ist es wichtig das Augenmerk nicht nur auf das Resektionsvolumen sondern vor allem auf die Leberfunktion zu richten.

Die Beurteilung der Leberfunktion basiert auf mehreren Parametern und besteht in der Mehrzahl der Fälle aus einer gezielten Anamnese kombiniert mit einem Routinelabor und einer Bildgebung (Sonographie oder Computertomographie). Für die Einschätzung der Synthese- und Exkretionsfunktion geben z.B. die Routinelaborparameter (Blutgerinnung, Bilirubin, Albumin, Cholinesterase) eine grobe Orientierung. In unserer Studie beobachteten wir die Verläufe der gängigen Laborparameter in beiden Gruppen 3 Monate lang nach Leberteilesektion.

Bezüglich Blutverlust, gemessen am Hämoglobin und Hämatokrit, konnten wir keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen feststellen. Auch die Verläufe der unterschiedlichen Elektrolyte verhielten sich in beiden Gruppen ähnlich und wiesen keine Auffälligkeiten auf.

Auffallend waren die postoperativ erhöhten Billirubin- und erniedrigten Albuminwerte, v.a. bei Patienten mit der Leberteilesektion größer als 30%, was auf eine stärker ausgeprägte Beeinträchtigung der Leberfunktion hinweisen könnte. Die Albuminwerte fielen in beiden Gruppen nach der Leberteilesektion

rasant ab und stiegen dann wieder kontinuierlich an. Es ist allerdings auch zu bedenken, dass im Rahmen der Akut-Phase-Reaktion, die postoperativ auftreten kann, die Syntheseleistung der Leber auf Ebene der Genexpression so verändert sein kann, dass die Plasma-Albuminkonzentration abfallen kann, ohne dass die globale Syntheseleistung beeinträchtigt wird. Gleichzeitig ist auch bekannt, dass Albumin mit der Ausreifung der Hepatozyten assoziiert ist (110). Jin et al. konnte zeigen, dass durch Gabe von SDF-1 die BMMC (bone marrow mononuclear cells) sich zu Hepatozyten differenzieren können. In der Gruppe mit SDF-1 war die Albuminkonzentration höher als in der Kontrollgruppe (111). Unsere Ergebnisse unterstreichen dieses Phänomen, denn auch die SDF-1-Konzentrationen stiegen direkt nach der Resektion an.

Zur Einschätzung des zellulären Schadens der Leber werden die Transaminasen bestimmt. Derartige Laborparameter liefern jedoch keine exakte Einschätzung der Leberfunktion, da sie weitgehend unbekanntes Verteilungsvolumina, Syntheseraten und möglicherweise vermehrtem Verbrauch oder vermehrter Ausscheidung unterliegen können. Interessant war unsere Beobachtung, dass die postoperativen Verläufe der Transaminasen sich in beiden Gruppen nicht voneinander unterschieden. Sie stiegen direkt nach der Leberteileresektion an und normalisierten sich nach ein paar Tagen wieder. Ein Anstieg der Transaminasen gibt zwar einen Hinweis auf einen möglichen hepatozellulären Schaden, jedoch nicht auf die tatsächlich vorhandene Funktionskapazität der Leber.

Weiterhin konnten wir die Beeinträchtigung der Blutgerinnungsparameter als indirektes Zeichen für eine verminderte Syntheseleistung der Leber aufzeigen. Vor allem in der Gruppe mit ausgeprägtem Lebervolumenverlust (>30%) waren erhöhte INR-Werte, erniedrigte Fibrinogen-Werte und eine verlängerte PTT zu messen.

Postoperative Verläufe der alkalischen Phosphatase und γ -GT waren in beiden Gruppen ähnlich. Die gemessenen Werte waren allerdings in der Gruppe mit dem größeren Lebervolumenverlust etwas höher, was ein Hinweis auf eine direkt postoperativ aufgetretene Cholestase sein könnte. Zu dieser Beobachtung würden auch die erhöhten Bilirubinwerte passen. Im Laufe von

drei Monaten nach Resektion normalisierten sich die AP- und γ -GT-Werte sowohl in Gruppe A als auch B und erreichten schließlich ihre Ausgangswerte.

Direkt nach dem chirurgischen Eingriff waren die CRP-Werte nicht erhöht. In Gruppe A, also bei den Patienten mit einem resezierten Lebervolumen von unter 20%, beobachteten wir allerdings einen CRP-Anstieg am zweiten Tag nach der Resektion, dem ein Abfall am vierten Tag nach der Resektion folgte. Der Grund dafür könnte aber auch die noch erhaltene funktionale Leberreserve sein, die bei den Patienten mit dem geringen Lebervolumenverlust vorhanden ist. Die durch das chirurgische Trauma und das dadurch stark reduzierte Volumen eingeschränkte Leber ist dagegen nicht imstande dieses Akute-Phase-Protein zu produzieren. Durch die postoperativ aufgetretene Nekrose kann zwar eine akute Entzündungsreaktion ausgelöst werden (20, 112), die akute Entzündungsreaktion scheint aber keine notwendige Bedingung für eine durch das Knochenmark unterstützte Leberregeneration zu sein (39, 46).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Laborparameter, die wir im Rahmen unserer 90 tägigen Beobachtung bestimmt haben, auf eine unmittelbar postoperativ aufgetretene Beeinträchtigung der Leberfunktion hinwiesen. Die Beeinträchtigung war, wie zu erwarten, in der Gruppe mit dem größeren Lebervolumenverlust stärker ausgeprägt als nach den kleineren Resektionen.

Konventionelle Laborparameter können wertvolle diagnostische und differentialdiagnostische Hilfen sein, aber wie oben bereits erwähnt, sind sie nicht immer zur Beurteilung der Leberfunktion geeignet. Zur besseren Einschätzung der Leberfunktion kann daher die ICG-Clearance-Rate benutzt werden. Auch in unserer Studie wurde die Leberfunktion mit Hilfe von LiMON-Technologie beurteilt.

In der Intensivmedizin konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Überleben kritisch kranker Patienten und der gemessenen Plasmaverschwinderate gezeigt werden (113). Auch die Mortalität septischer Patienten korrelierte mit niedrigen Plasmaverschwinderate-Werten (114). Durch Anwendung eines Schemas (ICG-Clearance, Gesamtbilirubinwert, Aszites) zur Abschätzung des möglichen Resektionsvolumens ist beispielsweise

japanischen Chirurgen eine deutliche Senkung der postoperativen Mortalität bei Patienten mit Leberzirrhose nach Resektion gelungen (115). In unserer Studie konnten wir einen massiven Abfall der PDR in der Gruppe mit den großen Leberteilesektionen beobachten. Die Plasmaverschwinderate sank am ersten Tag nach der Resektion, stieg allerdings bis zum 10. postoperativen Tag kontinuierlich an. Solche Veränderungen waren in der Gruppe mit den kleineren Resektionen nicht zu beobachten. Vermutlich war die Beeinträchtigung der Leberfunktion nach einer größeren Resektion stärker ausgeprägt und erholte sich wieder mit Voranschreiten der Leberregeneration. Mögliche Ursachen für die Variabilität könnten aber auch eine unterschiedlich ausgeprägte Durchblutung und die damit verbundene Elimination des Farbstoffes sein. Es ist außerdem bekannt, dass mit zunehmendem Alter die Leberdurchblutung abnimmt (116, 117), was auch eine Rolle spielen könnte.

Zusammenfassend zeigten die gemessenen Laborparameter, ergänzt durch LiMON eine direkt postoperativ eingetretene Beeinträchtigung der Leberfunktion und des Metabolismus vor allem nach ausgedehnten Leberteilesektionen. Diese Beeinträchtigung scheint vorübergehend zu sein, denn spätestens drei Monate nach der Resektion erreichten alle gemessenen Werte in beiden Gruppen ihre Ausgangswerte. Dies zeigten auch frühere Studien. Ezaki et al. konnten in ihrer Studie zeigen, dass sich bei Patienten mit einer gesunden Leber die gemessenen Laborwerte (GPT, Albumin, Gesamtbilirubin, Cholesterin) innerhalb von 14-28 Tage nach OP normalisiert hatten. Bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis bzw. Leberzirrhose normalisierte sich als letzter Parameter das Cholesterin erst nach 3-6 Monaten (118).

Wie aus der Literatur und der vorliegenden Arbeit ersichtlich, ist die Leberregeneration ein sehr komplexer Vorgang, der abhängig von vielen Faktoren ist, einer empfindlichen Regulation unterliegt und unterschiedliche Zelltypen involviert. Viele von diesen Faktoren, die einen nicht unerheblichen Einfluss auf den postoperativen Verlauf nach Leberteilesektion haben, wurden in dieser Arbeit nicht untersucht. Dennoch müssen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit letztlich in einem größeren Kontext beurteilt werden und

sollen weitere Studien anregen, um die Vorgänge im Rahmen der Leberregeneration noch besser zu verstehen.

Die dargestellten Einflüsse des Resektionsumfangs auf die Prozesse in der Leberregeneration eröffnen die theoretische Möglichkeit bei den erweiterten Hepatektomien durch Gabe von Zytokinen, Wachstumsfaktoren oder Gabe von Stammzellen den klinischen Verlauf zu verbessern (18, 70, 75). Adulte Stammzellen können unkompliziert gewonnen werden und bergen kaum ethische Probleme bei ihrem Einsatz als Zelltherapie. Hierdurch würden möglicherweise Patienten eine Hepatektomie erhalten können, für die diese Option sonst nicht verfügbar wäre, z.B. wenn ein großer Anteil gesunden Gewebes entfernt werden müsste und die verbleibende Lebermasse unzureichend für die Organfunktion wäre. Auch in der eigenen Klinik wurden bereits positive Erfahrungen mit autologen CD133⁺-Knochenmarkstammzellen gemacht, die ergänzend zur portalvenösen Embolisation zur Förderung der Leberproliferation gegeben wurden (16, 18). Weiterhin wäre die Gabe von Wachstumsfaktoren oder Stammzellen für Spender im Rahmen der Leberlebendspende einerseits eine Möglichkeit Komplikationen zu verringern und andererseits die Genesungszeit durch Unterstützung der Leberregeneration zu verkürzen.

5 Zusammenfassung

Die Leber hat eine ausgeprägte Regenerationskapazität, um auf eine zelluläre Schädigung oder einen zellulären Verlust, z.B. im Rahmen einer Leberresektion zu reagieren. Experimentelle Daten weisen darauf hin, dass extrahepatische Stammzellen an der Leberregeneration beteiligt sind. Die Leberregeneration ist ein sehr komplexer Prozess, bei dem es viele Signalkaskaden u.a. mit Beteiligung von Wachstumsfaktoren und Zytokinen gibt.

In der vorliegenden Studie wurden 30 Patienten zur Leberteilresektion mit primärem oder sekundärem Neoplasma der Leber mit Resektionsraten bis 65% eingeschlossen, der Beobachtungszeitraum betrug bis 90 Tage nach der Resektion. Das genaue Ausmaß der Leberresektion und der postoperative Zuwachs an Lebergewebe wurden mittels computertomographischer Volumetrie erhoben. Daten der Gruppe A mit einem resezierten Leberanteil von unter 20% wurden der Gruppe B mit über 30% Resektionsvolumen gegenübergestellt. Durchflusszytometrisch wurde das Aufkommen an CD45⁺/CD34⁺- und CD45⁺/CD133⁺-Stammzellen im peripheren Blut aus beiden Gruppen miteinander verglichen. Mit Hilfe von ELISA wurden die Serumkonzentrationen von HGF, SDF-1, IGF-1 und SCF bestimmt. An vorher definierten Zeitpunkten erfolgte die Bestimmung gängiger Laborparameter und die Beurteilung der Leberfunktion mittels Messung der Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün.

Unsere Daten zeigten, dass CD133⁺- mehr als CD34⁺-Stammzellen in den ersten Tagen nach einer Leberresektion signifikant ausgeprägter bei Patienten mit Lebervolumenverlust von über 30% peripher mobilisiert wurden, wenn mit der Gruppe nach Lebervolumenverlust unter 20% verglichen wurde. In den ersten 24 Stunden nach der Resektion beobachteten wir einen vermehrten Anstieg der HGF-Konzentration bei den Patienten mit mehr als 30% Leberparenchymverlust. Die HGF-Konzentration korrelierte 0, 6 und 24 Stunden postoperativ unabhängig vom Ausmaß der Resektion mit der peripheren Mobilisation von CD34⁺- und CD133⁺-Zellen in den ersten beiden postoperativen Tagen. Äquivalent zu HGF zeigten sich auch bei Serum-SDF-1- und die Serum-IGF-1-Konzentrationen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, insbesondere in den ersten sechs Stunden nach der

Resektion. Es bestand eine positive korrelative Beziehung zwischen der SDF-1-Konzentration im Blut zum Zeitpunkt der Resektion und der CD133⁺-Stammzell-Ausschüttung.

Mit diesen Untersuchungen konnten wir zeigen, dass die Zytokine wie HGF, SDF-1 und IGF-1, insbesondere nach ausgedehnten Formen hepatischer Resektion vermehrt ausgeschüttet werden und mit der Mobilisation peripherer Stammzellen und damit der postoperativen Leberregeneration assoziiert sind. Die Korrelation von Serum-HGF und Serum-SDF-1 mit peripher mobilisierten Stammzellen lässt für diese Zytokine einen mobilisierenden Effekt für CD133⁺- und CD34⁺-Zellen nach Leberresektion vermuten.

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten erweitern die Kenntnisse über die Mechanismen der Stammzellmobilisation nach hepatischem Parenchymverlust. Darüber hinaus zeigen sie mögliche Ansatzpunkte für die Optimierung bestehender klinischer Konzepte der Knochenmarkstammzellen-Applikation zur Förderung der Leberregeneration auf.

6 Literaturverzeichnis

1. Lang H, Mischinger HJ. Primäre Malignome der Leber. In: Chirurgische Onkologie; **2008**:185-199.
2. Golling M, Pepperl S, Lehnert T. Lebermetastasen. Der Onkologe **2004**;10:474-491.
3. Krebs in Deutschland 2009/2010. (Accessed 06.04.14., at http://www.rki.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2013/krebs_in_deutschland_2013.pdf?__blob=publicationFile.)
4. Pereira PL, Clasen S, Boss A, et al. Radiofrequenzablation von Lebermetastasen. Der Radiologe **2004**;44:347-357.
5. Suzuki S, Sakaguchi T, Yokoi Y, et al. Impact of repeat hepatectomy on recurrent colorectal liver metastases. Surgery **2001**;129:421-8.
6. Lang H, Nagel E. Leberchirurgie. In: Pichlmayrs Chirurgische Therapie; **2006**:335-368.
7. Bozzetti F, Gennari L, Regalia E, et al. Morbidity and mortality after surgical resection of liver tumors. Analysis of 229 cases. Hepatogastroenterology **1992**;39:237-41.
8. Brancatisano R, Isla A, Habib N. Is radical hepatic surgery safe? Am J Surg **1998**;175:161-3.
9. Cunningham JD, Fong Y, Shriver C, Melendez J, Marx WL, Blumgart LH. One hundred consecutive hepatic resections. Blood loss, transfusion, and operative technique. Arch Surg **1994**;129:1050-6.
10. Hemming AW, Reed AI, Howard RJ, et al. Preoperative portal vein embolization for extended hepatectomy. Ann Surg **2003**;237:686-91; discussion 691-3.
11. Okochi O, Kaneko T, Sugimoto H, Inoue S, Takeda S, Nakao A. ICG pulse spectrophotometry for perioperative liver function in hepatectomy. J Surg Res **2002**;103:109-13.
12. Broering DC, Hillert C, Krupski G, et al. Portal vein embolization vs. portal vein ligation for induction of hypertrophy of the future liver remnant. J Gastrointest Surg **2002**;6:905-13; discussion 913.
13. Renz-Polster HK, S. Braun, J. Basislehrbuch Innere Medizin. 3 ed; **2004**.
14. Markus PM, König S, Liersch T, Becker H. Die Leberregeneration. Der Onkologe **2000**;6:348-355.

-
15. Court FG, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* **2002**;89:1089-95.
 16. Furst G, Schulte am Esch J, Poll LW, et al. Portal vein embolization and autologous CD133+ bone marrow stem cells for liver regeneration: initial experience. *Radiology* **2007**;243:171-9.
 17. Kaido T Fau - Yoshikawa A, Yoshikawa A Fau - Seto S, Seto S Fau - Yamaoka S, et al. Portal branch ligation with a continuous hepatocyte growth factor supply makes extensive hepatectomy possible in cirrhotic rats. **1998**.
 18. Schulte am Esch JS, 2nd, Knoefel WT, Klein M, et al. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells* **2005**;23:463-70.
 19. Uwagawa T Fau - Unemura Y, Unemura Y Fau - Yamazaki Y, Yamazaki Y. Hyperbaric oxygenation after portal vein embolization for regeneration of the predicted remnant liver. **2001**.
 20. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* **1997**;276:60-6.
 21. Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration. *Hepatology* **2006**;43:S45-53.
 22. Krieg A, Schulte Am Esch J, Schmelzle M, et al. Stem cell factor levels do increase in patients subsequent to hepatectomy with the extent of parenchymal loss. *Transplant Proc* **2006**;38:3556-8.
 23. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol* **2007**;213:286-300.
 24. Francavilla A, Ove P, Polimeno L, et al. Regulation of liver size and regeneration: importance in liver transplantation. *Transplant Proc* **1988**;20:494-7.
 25. Kawasaki S, Makuuchi M, Ishizone S, Matsunami H, Terada M, Kawarazaki H. Liver regeneration in recipients and donors after transplantation. *Lancet* **1992**;339:580-1.
 26. Starzl TE, Fung J, Tzakis A, et al. Baboon-to-human liver transplantation. *Lancet* **1993**;341:65-71.
 27. Czaja M. Liver regeneration following hepatic injury. In: Strain A DA, ed. *Liver growth and repair*. London: Chapman and Hall; **1998**.
 28. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after hepatectomy. *Hepatogastroenterology* **2001**;48:556-62.
 29. Fausto N. Liver regeneration: from laboratory to clinic. *Liver Transpl* **2001**;7:835-44.

-
30. Haruna Y, Saito K, Spaulding S, Nalesnik MA, Gerber MA. Identification of bipotential progenitor cells in human liver development. *Hepatology* **1996**;23:476-81.
 31. Vessey CJ, de la Hall PM. Hepatic stem cells: a review. *Pathology* **2001**;33:130-41.
 32. Faktor VM, Radaeva SA. The formation of oval-cell ducts during hepatic carcinogenesis in mice. Its relationship to the pre-existing canals of Hering. *Ontogenez* **1992**;23:407-18.
 33. Fujio K, Evarts RP, Hu Z, Marsden ER, Thorgeirsson SS. Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab Invest* **1994**;70:511-6.
 34. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* **1999**;284:1168-70.
 35. Lemke C. *Histologie: Gruyter*; **1999**.
 36. Piscaglia AC, Shupe TD, Oh SH, Gasbarrini A, Petersen BE. Granulocyte-colony stimulating factor promotes liver repair and induces oval cell migration and proliferation in rats. *Gastroenterology* **2007**;133:619-31.
 37. Rountree CB, Barsky L, Ge S, Zhu J, Senadheera S, Crooks GM. A CD133-expressing murine liver oval cell population with bilineage potential. *Stem Cells* **2007**;25:2419-29.
 38. Wang X, Foster M, Al-Dhalimy M, Lagasse E, Finegold M, Grompe M. The origin and liver repopulating capacity of murine oval cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003**;100 Suppl 1:11881-8.
 39. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* **2000**;6:1229-34.
 40. Newsome PN, Johannessen I, Boyle S, et al. Human cord blood-derived cells can differentiate into hepatocytes in the mouse liver with no evidence of cellular fusion. *Gastroenterology* **2003**;124:1891-900.
 41. Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* **2002**;109:1291-302.
 42. Theise ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* **2000**;31:235-40.
 43. Yamazaki S, Miki K, Hasegawa K, Sata M, Takayama T, Makuuchi M. Sera from liver failure patients and a demethylating agent stimulate

-
- transdifferentiation of murine bone marrow cells into hepatocytes in coculture with nonparenchymal liver cells. *J Hepatol* **2003**;39:17-23.
44. Alison MR, Poulson R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* **2000**;406:257.
 45. Jeffery R, Poulson R, Alison MR. Sources of adult hepatic stem cells: haematopoietic. *Methods Mol Biol* **2009**;481:141-54.
 46. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* **2000**;32:11-6.
 47. De Silvestro G, Vicarioto M, Donadel C, Menegazzo M, Marson P, Corsini A. Mobilization of peripheral blood hematopoietic stem cells following liver resection surgery. *Hepatogastroenterology* **2004**;51:805-10.
 48. Gehling UM, Willems M, Dandri M, et al. Partial hepatectomy induces mobilization of a unique population of haematopoietic progenitor cells in human healthy liver donors. *J Hepatol* **2005**;43:845-53.
 49. Liu F, Pan X, Chen G, et al. Hematopoietic stem cells mobilized by granulocyte colony-stimulating factor partly contribute to liver graft regeneration after partial orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl* **2006**;12:1129-37.
 50. Spahr L, Lambert JF, Rubbia-Brandt L, et al. Granulocyte-colony stimulating factor induces proliferation of hepatic progenitors in alcoholic steatohepatitis: a randomized trial. *Hepatology* **2008**;48:221-9.
 51. Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* **2003**;422:901-4.
 52. Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* **2003**;422:897-901.
 53. Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* **2002**;416:542-5.
 54. Alvarez-Dolado M, Pardal R, Garcia-Verdugo JM, et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* **2003**;425:968-73.
 55. Fujii H, Hirose T, Oe S, et al. Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Hepatol* **2002**;36:653-9.
 56. Eckersley-Maslin MA, Warner FJ, Grzelak CA, McCaughan GW, Shackel NA. Bone marrow stem cells and the liver: are they relevant? *J Gastroenterol Hepatol* **2009**;24:1608-16.

-
57. Fackler Mj Fau - Krause DS, Krause Ds Fau - Smith OM, Smith Om Fau - Civin CI, Civin Ci Fau - May WS, May WS. Full-length but not truncated CD34 inhibits hematopoietic cell differentiation of M1 cells.
 58. Healy L, May G, Gale K, Grosveld F, Greaves M, Enver T. The stem cell antigen CD34 functions as a regulator of hemopoietic cell adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1995**;92:12240-4.
 59. Fina L, Molgaard HV, Robertson D, et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. *Blood* **1990**;75:2417-26.
 60. Brown J, Greaves MF, Molgaard HV. The gene encoding the stem cell antigen, CD34, is conserved in mouse and expressed in haemopoietic progenitor cell lines, brain, and embryonic fibroblasts. *Int Immunol* **1991**;3:175-84.
 61. Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* **1997**;90:5002-12.
 62. Yu Y, Flint A, Dvorin EL, Bischoff J. AC133-2, a novel isoform of human AC133 stem cell antigen. *J Biol Chem* **2002**;277:20711-6.
 63. de Wynter EA, Buck D, Hart C, et al. CD34+AC133+ cells isolated from cord blood are highly enriched in long-term culture-initiating cells, NOD/SCID-repopulating cells and dendritic cell progenitors. *Stem Cells* **1998**;16:387-96.
 64. Nakamura T, Torimura T, Sakamoto M, et al. Significance and therapeutic potential of endothelial progenitor cell transplantation in a cirrhotic liver rat model. *Gastroenterology* **2007**;133:91-107 e1.
 65. Klein HM, Ghodsizad A, Borowski A, et al. Autologous bone marrow-derived stem cell therapy in combination with TMLR. A novel therapeutic option for endstage coronary heart disease: report on 2 cases. *Heart Surg Forum* **2004**;7:E416-9.
 66. Klein HM, Ghodsizad A, Marktanner R, et al. Intramyocardial implantation of CD133+ stem cells improved cardiac function without bypass surgery. *Heart Surg Forum* **2007**;10:E66-9.
 67. Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* **2003**;361:45-6.
 68. Dalakas E, Newsome PN, Harrison DJ, Plevris JN. Hematopoietic stem cell trafficking in liver injury. *Faseb J* **2005**;19:1225-31.
 69. Hatch HM, Zheng D, Jorgensen ML, Petersen BE. 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**;4:339-51.

-
70. Kollet O, Shivtiel S, Chen YQ, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest* **2003**;112:160-9.
 71. Gohda E, Tsubouchi H, Nakayama H, et al. Purification and partial characterization of hepatocyte growth factor from plasma of a patient with fulminant hepatic failure. *J Clin Invest* **1988**;81:414-9.
 72. Yang ZJ, Xu SL, Chen B, et al. Hepatocyte growth factor plays a critical role in the regulation of cytokine production and induction of endothelial progenitor cell mobilization: a pilot gene therapy study in patients with coronary heart disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **2009**;36:790-6.
 73. Lindroos PM, Zarnegar R, Michalopoulos GK. Hepatocyte growth factor (hepatopoietin A) rapidly increases in plasma before DNA synthesis and liver regeneration stimulated by partial hepatectomy and carbon tetrachloride administration. *Hepatology* **1991**;13:743-50.
 74. Tomiya T, Tani M, Yamada S, Hayashi S, Umeda N, Fujiwara K. Serum hepatocyte growth factor levels in hepatectomized and nonhepatectomized surgical patients. *Gastroenterology* **1992**;103:1621-4.
 75. Ratajczak MZ, Kucia M, Reza R, Majka M, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak J. Stem cell plasticity revisited: CXCR4-positive cells expressing mRNA for early muscle, liver and neural cells 'hide out' in the bone marrow. *Leukemia* **2004**;18:29-40.
 76. Baccarani U, De Stasio G, Adani GL, et al. Implication of stem cell factor in human liver regeneration after transplantation and resection. *Growth Factors* **2006**;24:107-10.
 77. Desbois-Mouthon C, Wendum D, Cadoret A, et al. Hepatocyte proliferation during liver regeneration is impaired in mice with liver-specific IGF-1R knockout. *Faseb J* **2006**;20:773-5.
 78. Yang J, Wei JW. Influence of semi-hepatectomy on levels of cytokine, insulin and thyroxin in serum. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* **2007**;19:425-7.
 79. BD. Skript zum Durchflussszytometrie-Kurs in Heidelberg. In; 2012.
 80. Bosch FX, Ribes J, Diaz M, Cleries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* **2004**;127:S5-S16.
 81. Leberkrebs, hepatozelluläres Karzinom (HCC). (Accessed 06.04.14, at http://www.krebsgesellschaft.de/pat_ka_leberkrebs_definition,108027.html.)
 82. Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol* **2010**;176:2-13.

-
83. Taub R. Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol* **2004**;5:836-47.
 84. Gilchrist ES, Plevris JN. Bone marrow-derived stem cells in liver repair: 10 years down the line. *Liver Transpl* **2010**;16:118-29.
 85. Zocco MA, Piscaglia AC, Giuliante F, et al. CD133+ stem cell mobilization after partial hepatectomy depends on resection extent and underlying disease. *Dig Liver Dis* **2010**;43:147-54.
 86. Herencia C, Rodriguez-Ariza A, Canalejo A, et al. Differential bone marrow hematopoietic stem cells mobilization in hepatectomized patients. *J Gastrointest Surg* **2011**;15:1459-67.
 87. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, et al. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* **2002**;3:687-94.
 88. Hasuike S, Ido A, Uto H, et al. Hepatocyte growth factor accelerates the proliferation of hepatic oval cells and possibly promotes the differentiation in a 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy model in rats. *J Gastroenterol Hepatol* **2005**;20:1753-61.
 89. Son BR, Marquez-Curtis LA, Kucia M, et al. 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* **2006**;24:1254-64.
 90. He ZP, Tan WQ, Tang YF, Feng MF. Differentiation of putative hepatic stem cells derived from adult rats into mature hepatocytes in the presence of epidermal growth factor and hepatocyte growth factor. *Differentiation* **2003**;71:281-90.
 91. Austin TW, Lagasse E. Hepatic regeneration from hematopoietic stem cells. *Mech Dev* **2003**;120:131-5.
 92. Hattori K, Heissig B, Tashiro K, et al. Plasma elevation of stromal cell-derived factor-1 induces mobilization of mature and immature hematopoietic progenitor and stem cells. *Blood* **2001**;97:3354-60.
 93. Aiuti A, Webb IJ, Bleul C, Springer T, Gutierrez-Ramos JC. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. *J Exp Med* **1997**;185:111-20.
 94. Gehling UM, Willems M, Schlagner K, et al. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in patients with liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* **2010**;16:217-24.

-
95. De Falco E, Porcelli D, Torella AR, et al. SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells. *Blood* **2004**;104:3472-82.
 96. Takeuchi H, Natsume A, Wakabayashi T, et al. Intravenously transplanted human neural stem cells migrate to the injured spinal cord in adult mice in an SDF-1- and HGF-dependent manner. *Neurosci Lett* **2007**;426:69-74.
 97. Togel F, Isaac J, Hu Z, Weiss K, Westenfelder C. Renal SDF-1 signals mobilization and homing of CXCR4-positive cells to the kidney after ischemic injury. *Kidney Int* **2005**;67:1772-84.
 98. Petty JM, Sueblinvong V, Lenox CC, et al. Pulmonary stromal-derived factor-1 expression and effect on neutrophil recruitment during acute lung injury. *J Immunol* **2007**;178:8148-57.
 99. Fan Y, Menon RK, Cohen P, et al. Liver-specific deletion of the growth hormone receptor reveals essential role of growth hormone signaling in hepatic lipid metabolism. *J Biol Chem* **2009**;284:19937-44.
 100. Le Roith D. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Insulin-like growth factors. *N Engl J Med* **1997**;336:633-40.
 101. Rossi DJ, Jamieson CH, Weissman IL. Stems cells and the pathways to aging and cancer. *Cell* **2008**;132:681-96.
 102. Nervi B, Link DC, DiPersio JF. Cytokines and hematopoietic stem cell mobilization. *J Cell Biochem* **2006**;99:690-705.
 103. Akel S, Petrow-Sadowski C, Laughlin MJ, Ruscetti FW. Neutralization of autocrine transforming growth factor-beta in human cord blood CD34(+)CD38(-)Lin(-) cells promotes stem-cell-factor-mediated erythropoietin-independent early erythroid progenitor development and reduces terminal differentiation. *Stem Cells* **2003**;21:557-67.
 104. Ren X, Hu B, Colletti L. Stem cell factor and its receptor, c-kit, are important for hepatocyte proliferation in wild-type and tumor necrosis factor receptor-1 knockout mice after 70% hepatectomy. *Surgery* **2008**;143:790-802.
 105. Meng F, Francis H, Glaser S, et al. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. *Hepatology* **2012**;55:209-21.
 106. Ren X, Hogaboam C, Carpenter A, Colletti L. Stem cell factor restores hepatocyte proliferation in IL-6 knockout mice following 70% hepatectomy. *J Clin Invest* **2003**;112:1407-18.

-
107. Ferrero A, Vigano L, Polastri R, et al. Postoperative liver dysfunction and future remnant liver: where is the limit? Results of a prospective study. *World J Surg* **2007**;31:1643-51.
 108. Tucker ON, Heaton N. The 'small for size' liver syndrome. *Curr Opin Crit Care* **2005**;11:150-5.
 109. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. *N Engl J Med* **2007**;356:1545-59.
 110. Laszlo V, Dezso K, Baghy K, et al. Triiodothyronine accelerates differentiation of rat liver progenitor cells into hepatocytes. *Histochem Cell Biol* **2008**;130:1005-14.
 111. Jin SZ, Meng XW, Han MZ, Sun X, Sun LY, Liu BR. Stromal cell derived factor-1 enhances bone marrow mononuclear cell migration in mice with acute liver failure. *World J Gastroenterol* **2009**;15:2657-64.
 112. Streetz KL, Wustefeld T, Klein C, Manns MP, Trautwein C. Mediators of inflammation and acute phase response in the liver. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* **2001**;47:661-73.
 113. Sakka SG, Klein M, Reinhart K, Meier-Hellmann A. Prognostic value of extravascular lung water in critically ill patients. *Chest* **2002**;122:2080-6.
 114. Kimura S, Yoshioka T, Shibuya M, Sakano T, Tanaka R, Matsuyama S. Indocyanine green elimination rate detects hepatocellular dysfunction early in septic shock and correlates with survival. *Crit Care Med* **2001**;29:1159-63.
 115. Makuuchi M, Kosuge T, Takayama T, et al. Surgery for small liver cancers. *Semin Surg Oncol* **1993**;9:298-304.
 116. Woodhouse KW, Wynne HA. Age-related changes in liver size and hepatic blood flow. The influence on drug metabolism in the elderly. *Clin Pharmacokinet* **1988**;15:287-94.
 117. Durnas C, Loi CM, Cusack BJ. Hepatic drug metabolism and aging. *Clin Pharmacokinet* **1990**;19:359-89.
 118. Ezaki T, Koyanagi N, Toyomasu T, Ikeda Y, Sugimachi K. Natural history of hepatectomy regarding liver function: a study of both normal livers and livers with chronic hepatitis and cirrhosis. *Hepatogastroenterology* **1998**;45:1795-801.

Danksagung

Hiermit möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. J. Schulte am Esch für die freundliche Bereitstellung des Themas der hier vorgelegten Arbeit und seine konstruktive Begleitung der Dissertation bedanken; auf seine stete Hilfsbereitschaft bei meinen Fragen konnte ich mich immer verlassen.

An Herrn Prof. Dr. med. W. T. Knoefel und Herrn Prof. Dr. med. N. Stoecklein geht mein Dank für die Ermöglichung dieser Arbeit durch Bereitstellen der Materialien und Nutzung der Möglichkeiten der Klinik und des Forschungslabors.

Bei Herrn Prof. Dr. med. G. Fürst und seinen Mitarbeitern möchte ich mich für die zeitnahe computervolumetrische Auswertung und reibungslose Zusammenarbeit bedanken.

Darüber hinaus möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn PD Dr. med. M. Schmelzle für seine uneingeschränkte Unterstützung und Hilfe insbesondere bei den Anfängen dieser Arbeit bedanken.

Desweiteren gebührt Herr PD Dr. med. A. Krieg mein Dank, der mir mit seinem umfangreichen theoretischen und praktischen Wissen den Einstieg in das komplexe Thema deutlich erleichtert hat. Ich danke Frau PD Dr. med. N. Lehwald-Tywuschik für ihre Bereitschaft mir statistische Zusammenhänge verständlich zu machen und Herrn Dr. med. I. Bruns für seine sehr wertvolle Einführung in die FACS-Untersuchungsmethode.

In nicht minderem Maße möchte ich mich bei den Medizinisch-Technischen-Assistentinnen des Chirurgischen Forschungslabors, insbesondere bei Frau I. Hoffmann, S. Seidschner, S. Schumacher und A.-C. Vaerst, bedanken, die mir bei all meinen Fragen stets hilfsbereit und sehr freundlich zur Seite standen. Sie haben mich immer nicht nur fachlich sondern auch sehr persönlich unterstützt.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Ehemann Dr. med. Dirk Wildner, ohne dessen motivierende Art und vielfältige Unterstützung diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Schließlich und auf ganz besondere Weise möchte ich meiner Mutter, Valentina Ralemska, danken. Ohne ihre unermüdliche Bereitschaft mir die Zeit für die Erstellung dieser Arbeit zu ermöglichen, würde die vorliegende Dissertationsarbeit nicht existieren.

Eidesstattliche Versicherung

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

10.07.2016

Wildner (geb. Ralemska)