

Aus dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-
Universität Frankfurt am Main

Klinik für Allgemein- und Gefäßchirurgie
Direktor Prof. Dr. med. W. O. Bechstein

**Die Analyse der Chemokin- und Zytokinsekretion als
Ausdruck der systemischen Inflammation nach klinischer
Leberteilresektion**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin des Fachbereichs
Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt
am Main

vorgelegt von

Rosa-Maria Marquez-Pinilla

aus

Alzenau

Frankfurt am Main, 2008

Dekan: Prof. Dr. med. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. med. W. O. Bechstein

Koreferent: Prof. Dr. med. G. Oremek

Tag der mündlichen Prüfung: 08. Juni 2009

Para Ismael

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Die Leber als zentrales Organ	1
1.2 Geschichte der Leberchirurgie	1
1.3 Leberregeneration und ihr Mechanismus	2
1.4 Faktoren der Leberregeneration und ihr Zusammenspiel	3
1.5 Die inflammatorische Antwort nach Leberteilresektion	3
1.6 Einteilung der Zytokine und deren Wirkung	3
1.6.1 Allgemeine Definition	3
1.6.2 Überblick Interleukine	4
1.6.3 Ausgewählte Zytokine	5
1.6.3.1 IL-6	5
1.6.3.2 IL-10	5
1.7 Einteilung der Chemokine und deren Wirkung	6
1.7.1 Allgemeine Definition	6
1.7.2 Klassifikation und Nomenklatur	6
1.7.3 Ausgewählte Chemokine	7
1.7.3.1 MCP-1	7
1.7.3.2 IL-8	8
1.7.3.3 MIG und IP-10	8
1.8 Arbeitsgrundlagen und Fragestellung	9
2. Patienten, Material und Methoden	11
2.1 Patientenkollektiv	11
2.1.1 Verteilung der Merkmale	11
2.2 Material	11
2.2.1 Geräte	11
2.2.2 Blutentnahme und Asservation der Proben	12
2.2.3 Proteaseinhibitor	12
2.2.4 CBA Flex Sets und Chemokin Kit	12
2.2.5 Software	12
2.3 Methoden	13
2.3.1 Vorbereitung zur Blutentnahme	13
2.3.2 Zeitpunkte und Methode der Blutentnahmen	13
2.3.3 Aufbereitung und Lagerung	13
2.3.4 Cytometric Bead Array (CBA)	13
2.3.5 Vorbereitung der Proben zur Messung	14

3. Ergebnisse	15
3.1 Zytokine	15
3.1.1 IL-6	15
3.1.2 IL-10	16
3.2 Chemokine	17
3.2.1 MCP-1	17
3.2.2 IL-8	18
3.2.3 MIG	19
3.2.4 IP-10	20
3.3 Klinische Daten	21
3.3.1 Präoperative Daten	21
3.3.1.1 Geschlecht	21
3.3.1.2 Alter	21
3.3.1.3 Diagnose / OP-Indikation	21
3.3.2 Intraoperative Daten	22
3.3.2.1 Resektionsart	22
3.3.2.2 Resektionsgewicht	22
3.3.2.3 Pringle-Manöver	22
3.3.2.4 OP-Dauer/Präparationszeit	22
3.3.3 Postoperative Daten	23
3.4 Zytokin- und Chemokininduktion im Zusammenhang mit klinischen Parametern	25
3.4.1 MELD-Score	25
3.4.2 Chirurgische Parameter	30
3.4.3 Laborchemische Parameter	39
3.4.4 Komplikationen	44
3.4.5 Stationärer Aufenthalt	47
4. Diskussion	49
4.1 Methodik	49
4.2 Patienten	49
4.3 Untersuchte Zytokine und Chemokine	50
4.4 Einfluss auf klinische Parameter	51
4.4.1 MELD-Score	52
4.4.2 Chirurgische Parameter	53
4.4.3 Laborchemische Parameter	53
4.4.4 Komplikationen / stationärer Aufenthalt	54
4.5 Schlussfolgerung	54
5. Zusammenfassung	56
6. Summary	58

7. Literaturverzeichnis	60
8. Anhang	67
8.1 Danksagung	67
8.2 Veröffentlichungen	68
8.3 Curriculum vitae	69
8.4 Erklärung	70

1. Einleitung

1.1 Die Leber als zentrales Organ

Die Leber stellt die wichtigste Verbindung zwischen dem Verdauungstrakt und dem übrigen Körper dar. Durch die Architektur des Leberparenchyms und der damit verbundenen dualen Blutzirkulation, ist sie in der Lage, essentielle Funktionen wahrzunehmen:

- Synthese und Speicherung von Aminosäuren, Kohlenhydraten, Lipiden, Serum-Proteinen und Vitaminen
- Biotransformation von zirkulierenden Metaboliten
- Phagozytose von festen Partikeln bzw. antigenem Material
- Entgiftung und Exkretion von toxischen Metaboliten und Ausscheidung über die Galle

Zusammenfassend ist die Leber für die wichtigsten Stoffwechsellleistungen, die Homöostase, die Entgiftung und auch für das Immunsystem verantwortlich. Sie ist als einziges Organ in der Lage einen Parenchymverlust durch Regeneration bzw. Wiederherstellung der Organmasse zu kompensieren, ohne dabei ihre Funktionen zu verlieren. Eine Leberinsuffizienz - ausgelöst u. a. durch hepatotrope Viren, nutritiv-toxische Metabolite oder Trauma - zeigt sich im Anfangsstadium durch Hyperbilirubinämie (Ikterus), Störungen der Blutgerinnung und Hypalbuminämie mit Aszites. Die fortgeschrittene Leberinsuffizienz ist gekennzeichnet durch hormonelle Dysregulationen, das hepatorenale Syndrom (Nierenversagen aufgrund der Leberinsuffizienz) und die hepatische Enzephalopathie bis hin zum hepatischen Koma und Tod des Patienten.

1.2 Geschichte der Leberchirurgie

Die Geschichte der Leberchirurgie beginnt im eigentlichen Sinne erst im 17./18. Jahrhundert, als nach abdominellen Kriegsverletzungen prolabiertes Lebergewebe reseziert wurde. Mitte des 19. Jahrhunderts kam es durch den sog. Schnürlappen und die „Wanderleber“ zu einer Indikationserweiterung in der Leberchirurgie. Die Sterblichkeit lag zu diesem Zeitpunkt mit 44-56% sehr hoch. Die erste selektive Leberteilresektion in Deutschland wurde 1886 durch Karl J. A. Langenbuch (1846-1901) mit Hilfe eines Schnürlappens erfolgreich durchgeführt. Im gleichen Jahr ist die Entfernung eines gestielten kindskopfgroßen Lebertumors bei einem 67-jährigen Mann durch Lius (Italien) dokumentiert. Hier misslang die Versorgung des Gefäßstiels, der Patient verstarb 6 Stunden postoperativ an einer Nachblutung. 1891 gelang

es William Keen in den USA ein gestieltes Cystadenom der Leber erfolgreich zu entfernen. Das größte Risiko, welches die Zahl der erfolgreichen Resektionen limitierte, lag im hohen Blutverlust. So versuchte man mit Hilfe von Abschnürungen, Kompression der Wundränder und Ligaturen blutarm zu operieren. Von Langenbuch beschrieben erstmalig 1880 die temporäre Okklusion der A. mesenterica superior mit einer Umschnürung des Lig. hepatoduodenale als tödlich, später (1908) führte James Hogarth Pringle nach zahlreichen Versuchen an Kaninchen das nach ihm benannte Pringle-Manöver zur Kontrolle der Blutungen bei Verletzungen der Leber ein.

Durch Fortschritte in der Erforschung der Leberanatomie durch Rex 1888 in Deutschland und Cantlie 1898 in England wurde die Aufteilung der Leber in einzelne Lappen und deren Blutversorgung beschrieben. So konnte Wendel 1911 die erste erfolgreiche anatomische rechtsseitige Leberteileresektion im Krankenhaus Magdeburg/Sudenburg vornehmen.

Bis nach dem zweiten Weltkrieg waren Leberteileresektionen dennoch eine Rarität. Erst danach häufen sich die Angaben über anatomische Leberresektionen, 1952 durch Lortat-Jakobs (Frankreich), 1952 durch Quattelbaum (USA), 1955 durch Honjo (Japan) und andere.

Der große Sprung in der Leberchirurgie begann in den 50er- und 60er-Jahren mit genaueren Erkenntnissen der Lappen- und Segmentaufteilung der Leber, der entsprechenden Blutversorgung, Kenntnisse über die Leberischämie und die Koordinierung und Optimierung in der Anästhesie und Intensivtherapie. Dies alles und letztendlich die Verfeinerung der Operationstechniken trugen zur Senkung der Sterblichkeitsrate bei. So konnte in Deutschland die Sterblichkeitsrate in den 60er-Jahren von bis zu 50% auf 10 bis 20% in den Jahren 1975 bis 1981 gesenkt werden.

Seit ca. 1990 ist die Leberchirurgie weitgehend etabliert, die Letalität konnte in den letzten 10 Jahren auf unter 5% gesenkt werden. (1)

Um weitere Erkenntnisse zu erlangen, die die Morbidität und Mortalität nach Leberteileresektion weiter senken können, steht das Verständnis der Leberfunktion und -regeneration heute im Vordergrund.

1.3 Leberregeneration und ihr Mechanismus

Die Leberregeneration nach Teilresektion unterliegt verschiedenen Faktoren, die bis heute in ihrem Zusammenspiel noch nicht vollständig verstanden werden. Seit der von Higgins und Anderson im Jahre 1931 beschriebenen Regeneration der Leber nach einer 2/3 Hepatektomie im Tierversuch (2), folgten eine Vielzahl von Arbeitsgruppen, die den Mechanismus der Leberregeneration näher beschreiben konnten.

Man hat u. a. anhand von knock-out-Mäusen erkannt, dass die Regeneration der Leber einem empfindlichen System unterliegt, welches sich aus einer Vielzahl von Wachstumsfaktoren, Hormonen, Anaphylatoxinen, Zytokinen

und Chemokinen zusammensetzt (3-10). Die komplexe Regulation der Leberregeneration kann an vielen Stellen gestört werden und somit letztendlich zu einem Organversagen nach Leberteilresektion führen.

1.4 Faktoren der Leberregeneration und ihr Zusammenspiel

Die adulte Leber unterliegt unter physiologischen Bedingungen kaum einer Zellteilung mehr. Die überwiegende Zahl der Hepatozyten befindet sich in der G₀-Phase des Zellzyklus. Nach Teilresektion oder Trauma sind diese jedoch nach Stimulation durch verschiedene Botenstoffe in der Lage, erneut in den Zellzyklus einzutreten. Die Leberregeneration ist mehr durch eine Hyperplasie des Restgewebes als durch das Ersetzen von verlorenem Parenchym gekennzeichnet (4).

Die wichtigsten Trigger der Leberregeneration nach Teilresektion sind Tumor Nekrose Faktor (TNF) α und Interleukin (IL)-6, welche nach Parenchymschaden von Kupffer Zellen und Sternzellen der Leber sezerniert werden. IL-6 bindet an seinen spezifischen Rezeptor an Hepatozyten und löst über eine intrazelluläre Kaskade und NF κ B (Nuclear Factor kappa B) die Bindung von STAT 3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) an den Zellkern aus. Diesem Signal folgt die Synthese einer Vielzahl von Faktoren, die sowohl eine inflammatorische (im Sinne einer Akute-Phase-Antwort) als auch eine regenerative Reaktion hervorruft (5-9).

1.5 Die inflammatorische Antwort nach Leberteilresektion

TNF α und IL-6 sind nicht nur Trigger der Leberregeneration sondern auch wichtige Mediatoren der systemischen inflammatorischen Reaktion unter anderen traumatischen Faktoren (9). Weiterhin sind Interleukin (IL)-1 und Interleukin (IL)-8 an der inflammatorischen Reaktion beteiligt. Gemeinsam mit Chemokinen und Anaphylatoxinen sind IL-1 und IL-8 für das komplexe Zusammenspiel von Leukozyten, Lymphozyten u. a. und damit für die Immunantwort verantwortlich (10). Wird die Balance von pro-inflammatorischen und anti-inflammatorischen Faktoren gestört oder durch überschießende Reaktionen fehlgeleitet, kann dies zu Störungen der Organfunktion führen (11).

1.6 Einteilung der Zytokine und deren Wirkung

1.6.1 Allgemeine Definition

Zytokine sind lösliche Proteine und Polypeptide, zu denen die immunmodulierend wirkenden Interleukine, die Hämopoietine, die Tumornekrosefaktoren, die Wachstumsfaktoren und die Interferone

gerechnet werden. Gemeinsam mit proteolytischen Enzymen und dem Komplementsystem werden sie zu den löslichen Mediatoren des Immunsystems gezählt. Über die Bindung von Zytokinen an ihre spezifischen Rezeptoren von unterschiedlichen Zelloberflächen werden durch Auslösen intrazellulärer Signalkaskaden die verschiedenen Zielsysteme erreicht. Durch parakrine und/oder autokrine bzw. hormonähnliche Sekretion dieser Botenstoffe kann die Funktion von den jeweiligen Zielzellen beeinflusst werden.

1.6.2 Überblick Interleukine

Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die für diese Arbeit wichtigen Interleukine, deren Herkunft und Wirkspektrum.

Tabelle 1-1
Übersicht Zytokine, * gehört zur Familie der Chemokine (s. u.)

Bezeichnung	Herkunft u. a.	Wirkung u. a.
IL-1	ubiquitär, v. a. mononukleäre Makrophagen	Proinflammation, Entzündung, Fieber; Aktivierung von B- und T-Lymphozyten; Steigerung der Synthese von IL-1, IL-6 und Prostaglandin E2
IL-2	T-Helferzellen	Wachstum und Aktivierung von T- und B-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen; Steigerung der Synthese von IL-1 und Interferon
IL-3	T-Helferzellen, natürliche Killerzellen	Wachstum hämopoietischer Stammzellen
IL-4	T-Lymphozyten, mononukleäre Makrophagen, Mastzellen	Wachstum und Aktivierung von T- und B-Lymphozyten; Steigerung der Ig-Synthese
IL-5	T-Lymphozyten, mononukleäre Makrophagen, Mastzellen	Wachstum und Aktivierung von T- und B-Lymphozyten; Steigerung der Ig-Synthese, Wachstum von Vorläufern von eosinophilen Granulozyten
IL-6	mononukleäre Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen	Proinflammation, Entzündung, Fieber; Synthese der Akute-Phase-Proteine; Aktivierung von B- und T-Lymphozyten; Steigerung der Ig-Synthese
IL-7	Stromazellen, mononukleäre Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen	Wachstum von B- und T-Zellvorläufern
IL-8*	T-Helferzellen, mononukleäre Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen	Proinflammation, Chemotaxis, Aktivierung von neutrophilen Granulozyten
IL-10	T-Lymphozyten, mononukleäre Makrophagen, Mastzellen	Inhibitorische, regulative Wirkung auf die Synthese versch. Zytokine

Die wichtigste Aufgabe von Interleukinen ist die Regulation der Immunantwort. Sie stellen die Verbindung zwischen dem zellulären und

humoralen Immunsystem dar und sorgen dadurch für die adäquate Reaktion auf mögliche pathogene, virulente oder traumatische Faktoren, die eine Bedrohung des Organismus darstellen könnten.

Für die Leber sind u. a. diese Botenstoffe zur Regulation ihrer Zellfunktion und der Wiederherstellung ihrer Integrität nach Trauma, Infektion, Ischämie und anderer Schädigung essentiell.

Die hier beschriebenen Interleukine werden in der Literatur allgemein als Zytokine genannt.

1.6.3 Ausgewählte Zytokine

1.6.3.1 IL-6

IL-6 ist ein pleiotropes Zytokin und erfüllt somit multiple Funktionen. Es wird von unterschiedlichsten Geweben sezerniert und entfaltet seine Wirkungen an verschiedenen Zellsystemen. Im Rahmen der Sicherstellung der Homöostase nach Endotoxinämie, Trauma und akuter Infektion nimmt IL-6 eine zentrale Rolle ein. Gemeinsam mit IL-1 und TNF α sorgt IL-6 für eine Induktion der Akute-Phase-Antwort, welche Fieber, Kortikoid-Ausschüttung und die Freisetzung von Akute-Phase-Proteinen durch die Leber zu Folge hat. Abgesehen von der inflammatorischen Antwort ist IL-6 für die Differenzierung von B- und T-Lymphozyten, myeloiden Zellen, Megakaryozyten, Osteoklasten, neuralen Zellen und Hepatozyten von entscheidender Bedeutung (9).

1.6.3.2 IL-10

Im Zusammenhang mit der systemischen inflammatorischen Reaktion zählt IL-10 ebenfalls zu den immunmodulatorisch wirkenden Zytokinen. Hierbei spielt IL-10 eine entscheidende Rolle in der Regulation von pro-inflammatorischen Zytokinen. Es wird hauptsächlich von aktivierten Makrophagen (in der Leber sog. Kupffer Zellen) ausgeschüttet, unterdrückt die Ausschüttung von IL-1 und TNF α und nimmt somit Einfluss auf die inflammatorische Reaktion. In verschiedenen Studien konnte die anti-inflammatorische und somit protektive Rolle von IL-10 nachgewiesen werden. Es konnte gezeigt werden, dass eine verminderte IL-10-Antwort mit einem erhöhten Risiko für ein SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome) bzw. für post-operative Komplikationen einhergeht. Im Gegensatz hierzu führt eine überhöhte Ausschüttung von IL-10 zu einer Unterdrückung der Immunantwort - also Immunsuppression - und somit zu einer schlechteren Rekonvaleszenz der Patienten nach operativem Trauma (11,12).

1.7 Einteilung der Chemokine und deren Wirkung

1.7.1 Allgemeine Definition

Chemokine gehören zur Gruppe der **chemotaktisch** wirksamen **Zytokine**. Es sind kleine, sekretorische Proteine von 70-125 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 6 bis 14 kDa, welche u. a. von Leukozyten und Gewebezellen sezerniert werden. Sie entfalten ihre Wirkung durch autokrine, parakrine und hormonähnliche Effekte auf die jeweiligen Zielzellen. Man unterscheidet sog. konstitutionell vorkommende von induzierbaren Chemokinen, wobei erste in Geweben zur Reifung und Differenzierung spezifischer Zellen wichtig sind. Induzierbare Chemokine spielen im Rahmen der Immunantwort bzw. der inflammatorischen Reaktion eine essentielle Rolle bei bakteriellen und viralen Infektionen, allergischen Reaktionen, Regeneration nach Trauma u. v. m. Die Expression von inflammatorischen Chemokinen geschieht nur unter spezifischen Vorraussetzungen, typischerweise angestoßen durch inflammatorische Zytokine nach Infektion oder Trauma (v. a. bakterielle Lipopolysaccharide, Viren, IL-1 β und TNF α). In der Leber werden diese Zytokine von den Kupffer-Zellen sezerniert, welche hierdurch die Ausschüttung von Chemokinen triggern. Chemokine sind somit durch die Vielfalt ihrer Expression, Regulation und Rezeptoren an einer Vielzahl von Prozessen beteiligt:

- Organogenese
- Angiogenese
- Hämatopoiese
- neuronale Kommunikation mit Mikroglia
- Rekrutierung von Leukozyten (Inflammation, Immunantwort)
- u. a. (13,14).

1.7.2 Klassifikation und Nomenklatur

Man unterscheidet bislang fast 50 Chemokine und ungefähr 14 Chemokin-Rezeptoren. Chemokine werden anhand ihrer Struktur unterschiedlichen Familien zugeordnet. Zu den beiden Hauptgruppen zählen die CXC- und CC-Chemokine, während die CX₃C- und die XC-Chemokine eine kleine Gruppe bilden und daher hier nur am Rande erwähnt bleiben. Die Einteilung der Chemokine ergibt sich aus der Stellung der ersten beiden Cysteine (von insgesamt vier), welche entweder durch eine weitere Aminosäure getrennt (CXC), oder durch eine einfache chemische Bindung direkt verbunden sind (CC). Die vier Cysteine bilden untereinander Disulfidbrücken aus (Cys 1 +

Cys 3 und Cys 2 + Cys 4), woraus sich die Tertiärstruktur des jeweiligen Chemokins ergibt.

In der Gruppe der CXC-Chemokine erfolgt eine weitere Einteilung in ELR+ und ELR- CXC-Chemokine. Abhängig davon ist das Vorhandensein eines Glutamin-Leucin-Arginin-Restes (ELR) am CXC-Terminus, welches für die Bindung an einen spezifischen Rezeptor von Bedeutung ist. Während ELR+ Chemokine überwiegend für die Chemotaxis von neutrophilen Granulozyten und die Angiogenese verantwortlich sind, sind ELR- Chemokine für die Chemotaxis von mononukleären Zellen von Bedeutung und in der Lage, die angiogenetische Potenz von ELR+ Chemokinen zu inhibieren.

Neben eines Eigennamens für fast alle Chemokine, ist die systematische Bezeichnung eines Chemokins durch 1. die Art der Bindung am Cysteinrest und 2. durch die Reihenfolge ihrer Entdeckung üblich. Der Terminus „L“ steht für Ligand, der Terminus „R“ für den Rezeptor, an dem das jeweilige Chemokin seine Wirkung entfaltet. Einige Chemokine binden mehr als einen Rezeptor, während einige Chemokin-Rezeptoren mehr als ein Chemokin als Liganden haben (Redundanz und Konvergenz).

1.7.3 Ausgewählte Chemokine

Tabelle 1-2
Übersicht ausgewählter Chemokine (13-16)

Systematischer Name	Eigenname	Zugehörige Rezeptoren	Chemokin Typ	Vorkommen
CXCL8	IL-8	CXCR1, 2	ELR+	Induzierbar Inflammation
CXCL9	MIG	CXCR3	ELR-	Induzierbar Inflammation
CXCL10	IP-10	CXCR3	ELR-	Induzierbar Inflammation
CCL2	MCP-1	CCR2	4 Cysteine	Induzierbar Inflammation

1.7.3.1 MCP-1

MCP-1 (**M**onozyte **C**hemoattractant **P**rotein-1) gehört zur Familie der CC-Chemokine. Der Rezeptor CCR2 wird v. a. von basophilen Granulozyten, Monozyten, dendritischen Zellen, natürlichen Killerzellen und TH1-Lymphozyten exprimiert. Es beeinflusst somit sowohl die Migration von Zellen und deren Phagozytoseaktivität als auch die Aktivität von TH1-Lymphozyten. MCP-1 gehört zur Gruppe der inflammatorisch wirksamen Chemokine, dessen Einfluss auf unterschiedliche pathophysiologische Prozesse untersucht wurde: chronisch entzündliche Erkrankungen wie z. B. rheumatoide Arthritis, Asthma bronchiale, Allergien, Atherosklerose,

chronische Entzündungen des ZNS, des Darmes (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa) und der Haut (Psoriasis), Glomerulonephritis, Fibrose der Leber, Hepatitis, alkoholische Lebererkrankungen, akute bakterielle und virale Infektionen etc. (13,14,16,17).

1.7.3.2 IL-8

IL-8 (Interleukin-8) gehört zur Gruppe der ELR+ CXC-Chemokine und wurde als eines der ersten Chemokine genauer in seiner Funktion und Struktur beschrieben. IL-8 ist bisher das einzig bekannte Chemokin, das auf neutrophile Granulozyten wirksam ist, welche maßgeblich für die bakterielle Abwehr verantwortlich sind. Seine Rezeptoren CXCR1 und CXCR2 werden des Weiteren von Mastzellen, Monozyten und Makrophagen exprimiert. IL-8 gehört zu den wichtigsten initialen, inflammatorischen Mediatoren bei Infektion, Sepsis und Trauma. Außerdem wurde IL-8 im Rahmen von anderen entzündlichen Erkrankungen als Trigger identifiziert: ARDS, bakterielle Pneumonie und Meningitis, rheumatoide Arthritis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), Psoriasis, verschiedene Lebererkrankungen (Hepatitis, Fibrose, alkoholische Lebererkrankung) und Atherosklerose etc. (13,14,17).

1.7.3.3 MIG und IP-10

MIG (**M**onokine induced by IFN γ) und IP-10 (IFN γ -inducible **P**rotein-10) gehören zur Familie der ELR- CXC-Chemokine. Der gemeinsame Rezeptor CXCR3 wird von TH1-Zellen und natürlichen Killerzellen exprimiert. Wie die Eigennamen andeuten, werden MIG und IP-10 unter Einfluss von IFN γ ausgeschüttet, welches zur Gruppe der initialen Zytokine der inflammatorischen Antwort gehört. Im Gegensatz zu den vorgenannten Chemokinen, haben MIG und IP-10 nur einen chemotaktischen Effekt auf aktivierte T-Zellen. Die weitere Besonderheit liegt im gemeinsamen Rezeptor, an welchem sich beide Chemokine gegenseitig beeinflussen können. Während MIG im akuten Stadium einer Erkrankung vorkommt, wird IP-10 sowohl bei akutem als auch im chronischen Stadium nachweisbar.

Desweiteren zeigen beide Chemokine die Fähigkeit antiangiogenetisch zu wirken, Tumorstadium zu unterdrücken, die Proliferation und Migration von Endothelzellen zu hemmen, und sie stellen bei viralen Infektionen wichtige Mediatoren der Immunabwehr dar.

Im Rahmen folgender Erkrankungen wurden sie untersucht:

Hepatitis C, Glomerulonephritis, Enzephalomyelitis, Meningitis, chronisch entzündliche Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa), Sarkoidose und Atherosklerose etc. (17,18).

1.8 Arbeitsgrundlagen und Fragestellung

Durch die Fortschritte in der Leberchirurgie konnte die Sterblichkeitsrate bei Leberteilresektionen bis unter 5 % gesenkt werden. Dennoch ist die Leberteilresektion nach wie vor mit spezifischen Komplikationen behaftet, welche der speziellen Rolle der Leber im Organismus zugrunde liegen, und die das Verständnis für das Zusammenspiel der Abläufe von Homöostase, Inflammation und Regeneration zur Voraussetzung macht.

In den vergangenen Jahren wurde die Leberteilresektion und ihre Auswirkungen auf die unterschiedlichen Biosysteme von verschiedenen Arbeitsgruppen zumeist im Tierversuch untersucht.

Cressman et al. konnten im Rahmen einer Studie an Mäusen mit einem Defekt am IL-6-Gen nachweisen, dass dieses Zytokin eine kritische Komponente in der regenerativen Antwort der Leber darstellt (19).

In diesem Zusammenhang wurde von Fausto die Rolle von IL-6 und TNF α anhand von Knock-out-Genen beschrieben (3). Weiterführend wurden von Fausto et al. zahlreiche Studien zur Leberregeneration und deren Mechanismus anhand von Tiermodellen und der Untersuchung von Zytokinen in diesem Zusammenhang veröffentlicht. Hier zeigte sich im Tiermodell, dass bestimmte Wachstumsfaktoren und insbesondere IL-6 für die Regeneration nach Trauma der Leber essentiell sind (3, 5, 8). Markiewski et al. und Strey et al. wiesen darüber hinaus die Bedeutung von Anaphylatoxinen und deren Rolle in der Leberregeneration nach (10, 20). Bedeutend hierbei war der Nachweis einer frühen Ausschüttung der Anaphylatoxine nach Leberteilresektion bei Mäusen, welche innerhalb der ersten 6 Stunden nach dem Eingriff bereits relevante Serumspiegel zeigte.

Weitere Arbeitsgruppen befassten sich mit einzelnen Zellsystemen der Leber und deren Einfluss auf die Leberregeneration. So konnten Aldeguer et al. anhand eines Knock-out-Modells von Mäusen den parakrinen Mechanismus von IL-6 und dessen Rolle in der Restitution der Leber nachweisen. Selzner et al. beschrieben anhand ihrer Studien von Kupffer-Sternzellen und deren Aktivierung mittels durch Zytokine rekrutierte Leukozyten einen möglichen Pfad der Leberregeneration im Rahmen der inflammatorischen Antwort nach Leberteilresektion an Mäusen (22).

IL-10 wurde, im Kontext der Immunmodulation, als anti-inflammatorisch wirksames Zytokin in diversen Studien identifiziert. U. a. Morita et al. konnten im Rahmen der Untersuchung von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen bei Gallengangs-ligierten Mäusen den Einfluss von IL-10 auf eine überschüssige inflammatorische Antwort zeigen (23, 24, 25).

IL-8, ein potentes pro-inflammatorisches Chemokin, welches v. a. für die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten verantwortlich ist, könnte im Zusammenhang von Untersuchungen u.a. nach Ischämie-Reperfusion der Leber eine wichtige Rolle im Hinblick auf das postoperative Gesamtergebnis spielen (26).

In einer Studie von Patienten mit akuten Leberversagen konnten Leifeld et al. sowohl im Serum als auch immunhistochemisch im Leberparenchym höhere Konzentrationen an MCP-1 nachweisen, als bei Patienten mit chronischer Lebererkrankung. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass das Chemokin MCP-1 bei der akuten inflammatorischen Antwort von Bedeutung ist (27).

Sowohl MIG als auch IP-10 sind im Kontext der akuten inflammatorischen Antwort und im Zusammenhang mit chronischen Lebererkrankungen wie virale Hepatitiden als wichtige Mediatoren untersucht worden. So konnten Koniaris et al. und Gasperini et al. anhand ihrer Studien an humanen Zelllinien und im Tiermodell nach partieller Hepatektomie beide Chemokine sowohl als Trigger der akuten inflammatorischen Antwort als auch als Mediatoren der Leberregeneration bei chronischer Lebererkrankung identifizieren (28, 29).

Die Regulation der lokalen und systemischen inflammatorischen und regenerativen Antwort nach Leberresektion unterliegt einem - auch zeitlich - fein abgestimmten System der beschriebenen Modulatoren. Es bleibt offen, welche der in Tiermodellen als relevant beschriebenen Faktoren auch beim Menschen eine Rolle spielen und ob diese Modulatoren eine diagnostische Bedeutung in der klinischen Situation haben.

Vor diesem Hintergrund ist Ziel dieser Studie, die o. g. Zytokine und Chemokine im Serum von Patienten nach einem festgelegten Zeitpfad zu messen und einen möglichen Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf nach Leberteilresektion zu untersuchen.

Im Einzelnen werden folgende Fragen verfolgt:

Lässt sich eine frühe systemische Freisetzung der Zytokine IL-6 und IL-10 und der Chemokine MCP-1, IL-8, MIG und IP-10 nach klinischer Leberteilresektion nachweisen?

Zeigt diese Freisetzung relevante Unterschiede im zeitlichen Verlauf?

Sind Zusammenhänge zwischen diesen gemessenen Faktoren und klinischen Parametern (MELD-Score, chirurgische und laborchemische Parameter und postoperative Komplikationen) erkennbar?

2. Patienten, Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Insgesamt 26 Patienten wurden in Intubationsnarkose operiert, erhielten präoperativ einen zentralen Venenkatheter, einen arteriellen Zugang sowie einen Periduralkatheter zur postoperativen Schmerztherapie.

Die Indikation zur Leberteileresektion wurde anhand von unterschiedlichen Diagnosen gestellt (s. u.).

2.1.1 Verteilung der Merkmale

Tabelle 2-1

	Segmentresektionen	Hemihepatektomien und erweiterte Resektionen	Gesamt
Anzahl	12	14	26
Geschlecht männlich	4	11	15
Geschlecht weiblich	8	3	11
Alter	57,6 ± 14,7	62,9 ± 8,1	60,5 ± 11,9
Resektat Gewicht (g)	255 ± 144	988,5 ± 549,7	650 ± 553,2
HCC (in Zirrhose)	1	1	2
CCC	0	6	6
Metastasen (kolorekt.)	9	6	15
benigne Tumore	2	1	3

Das Durchschnittsalter im Kollektiv lag bei 60,5 Jahren. Von insgesamt 26 Patienten waren 11 weiblich und 15 männlich. 15 Patienten wurden aufgrund von Lebermetastasen eines kolorektalen Karzinoms reseziert, 6 Patienten aufgrund eines cholangiozellulären Karzinoms (CCC), 2 Patienten aufgrund eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) in Zirrhose und 3 Patienten aufgrund eines nichtmalignen Tumors der Leber (zwei Hämangiome, ein Adenom). Bei zwei Patienten zeigte sich intraoperativ eine Zirrhose. Das durchschnittliche Resektionsgewicht lag in der Gruppe der Segmentresektionen bei 255 g und bei den Hemihepatektomien bzw. erweiterten Resektionen bei 988,5 g.

2.2 Material

2.2.1 Geräte

Zentrifuge
FACSCalibur®

Heraeus Sepatech Varifuge RF
Becton Dickinson Heidelberg, Deutschland

2.2.2 Blutentnahme und Asservation der Proben

S-Monovette®	2,7 ml K3E, No./REF 05.1167 Inhalt: 1,6 mg EDTA/ml Blut Sarstedt AG & Co., D-51588 Nümbrecht
Transferpipette steril	3,5 ml, No. 86.1171.001 Sarstedt AG & Co., D-51588 Nümbrecht
Cryo Tube™ Vials	1,8 ml, No. 363401 nunc™, DK-4000 Roskilde/ Dänemark

2.2.3 Proteaseinhibitor

Futhan	Produktname: FUT-175, Nr. 552035, 5 mg, Becton Dickinson Biosciences, San Diego, USA
--------	---

2.2.4 CBA Flex Sets und Chemokin Kit

Human IL-6 Flex Set	Nr. 558276, Becton Dickinson Biosciences, San Diego, USA
Human IL-10 Flex Set	Nr. 558274, Becton Dickinson Biosciences, San Diego, USA
Human Chemokine Kit I	Nr. 552990, Becton Dickinson Biosciences, San Diego, USA

2.2.5 Software

StatView®	Statistikprogramm (1999) SAS Institute SAS Campus Drive Cary, NC 27513 USA
FCAP Array™ Software v1.0.1, Part No. 641488	FACSCalibur®, Becton Dickinson San Jose, USA

2.3 Methoden

2.3.1 Vorbereitung zur Blutentnahme

Vor Blutentnahme (BE) wurden alle hierfür genutzten Entnahmeröhrchen mit 25 µl Futhan beschickt. Die so vorbereiteten Entnahmeröhrchen wurden bis zur BE auf Eis gelagert.

2.3.2 Zeitpunkte und Methode der Blutentnahmen

Tabelle 2-2

BE-Nr.	Zeitpunkt
1	Prä-OP
2	10 Minuten nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers und Reperfusion
3	30 Minuten nach Resektion
4	1 Stunde nach Resektion
5	2 Stunden nach Resektion
6	4 Stunden nach Resektion
7	6 Stunden nach Resektion
8	1. Tag Post-OP
9	3. Tag Post-OP
10	4. Tag Post-OP
11	7. Tag Post-OP

Die prä-operativen und die am 7. post-operativen Tag BE erfolgten peripher venös. Während der Operation und bis zum 4. Tag post-operativ wurden die Proben mittels Zentralen Venenkatheter (ZVK) gewonnen; vor BE wurde am hierfür genutzten freien Schenkel zunächst 4-5 ml Blut abgezogen, um eine mögliche Verdünnung zu vermeiden, erst dann wurde die Probe entnommen. Alle Proben wurden umgehend nach Entnahme auf Eis gelagert.

2.3.3 Aufbereitung und Lagerung

Die zellulären Bestandteile der Proben wurden 20 Minuten mit 2000 U/min. bei 4°C abzentrifugiert. Anschließend wurde unter sterilen Bedingungen mittels Transferpipette der Plasma-Überstand abpipettiert und bis zur Messung in sterilen Cryo-Tubes bei -80°C umgehend eingelagert.

2.3.4 Cytometric Bead Array (CBA)

Das Prinzip dieses Meßverfahrens gleicht einem Sandwich-ELISA, bei dem die Durchflußzytometrie zur Analyse der Proben genutzt wird. Hierbei dienen als feste Phase sog. Polystyrol-Kügelchen (Beads) einer genau definierten Größe, welche mit einem spezifischen Erst-Antkörper zur Detektion der zu

messenden Chemokine/Zytokine bestückt sind. Bei der Herstellung der Beads werden verschiedene Beadpopulationen durch Markierung mit einer bestimmten Fluoreszenzintensität determiniert. Hierbei können die einzelnen Beadpopulationen bei der Messung im FACS-Gerät voneinander unterschieden werden. Jede Beadpopulation wurde mit einem für das nachzuweisende Chemokin/Zytokin spezifischen Antikörper kombiniert (Capture Beads). Nach Zugabe der Probe zu den Capture Beads binden die gesuchten Chemokine/Zytokine an deren spezifischen Antikörperoberfläche, und durch einen Phycoerythrin-markierten Zweit-Antikörper, werden die zu messenden Chemokine/Zytokine per Durchflußzytometrie im Sinne des Sandwichverfahrens quantifiziert. Durch die unterschiedliche Größe der Beads und deren variable Antikörperbeschickung ist es somit möglich, mehrere Chemokine/Zytokine gleichzeitig durch das FACS-Gerät detektieren zu lassen.

Die Quantifizierung der Chemokine/Zytokine erfolgte durch mitgeführte Standards in den einzelnen Kits.

2.3.5 Vorbereitung der Proben zur Messung

Alle Proben wurden auf Eis aufgetaut und umgehend der optimalen Verdünnung zugeführt, welche durch Erstellung der Standardkurven determiniert wurde. Die folgende Aufbereitung der Proben und die anschließende Messung im FACSCalibur® erfolgte nach Handbuch von Becton Dickinson Biosciences.

3. Ergebnisse

3.1 Zytokine

3.1.1 IL-6

Die Analyse des Zytokins IL-6 zeigt im zeitlichen Verlauf Veränderungen in den Serumkonzentrationen von Patienten während und nach erfolgter Leberteilresektion. Die höchsten Serumkonzentrationen konnten 2 Stunden nach Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers gemessen werden ($p < 0,0001$), im weiteren Verlauf fallen die Konzentrationen nach 7 Tagen postoperativ annähernd auf die präoperativen Werte zurück.

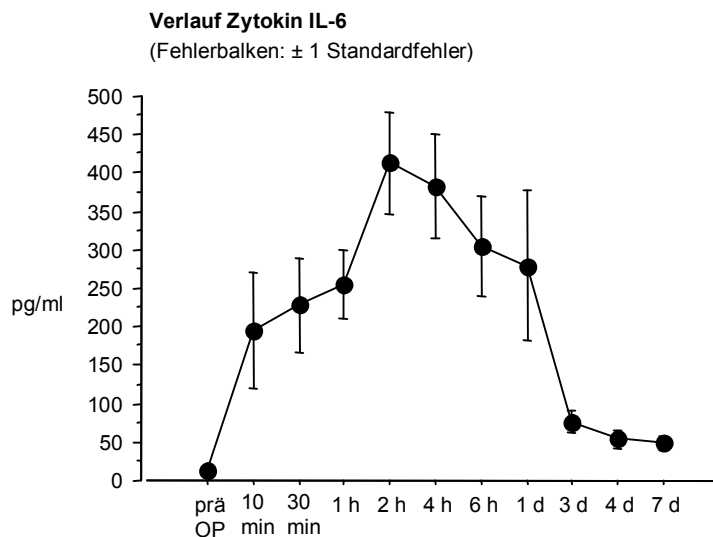


Abb. 3-1, Verlauf Zytokin IL-6 (ANOVA, $p < 0,0001$)

Tabelle 3-1 (ANOVA Fisher-PLSD)

relevante Zeitpunkte IL-6	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
T prä OP, T 10 min.	0,0053 (s)
T prä OP, T 30 min.	0,0010 (s)
T prä OP, T 1 h	0,0002 (s)
T prä OP, T 2 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 4 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 6 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 1 d	<0,0001 (s)

3.1.2 IL-10

Die Analyse des Zytokins IL-10 zeigt im zeitlichen Verlauf Veränderungen in den Serumkonzentrationen von Patienten während und nach erfolgter Leberteilresektion. Die höchsten Serumkonzentrationen konnten 4 Stunden nach Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers gemessen werden ($p < 0,0001$), im weiteren Verlauf fallen die Konzentrationen nach 7 Tagen postoperativ annähernd auf die präoperativen Werte zurück.

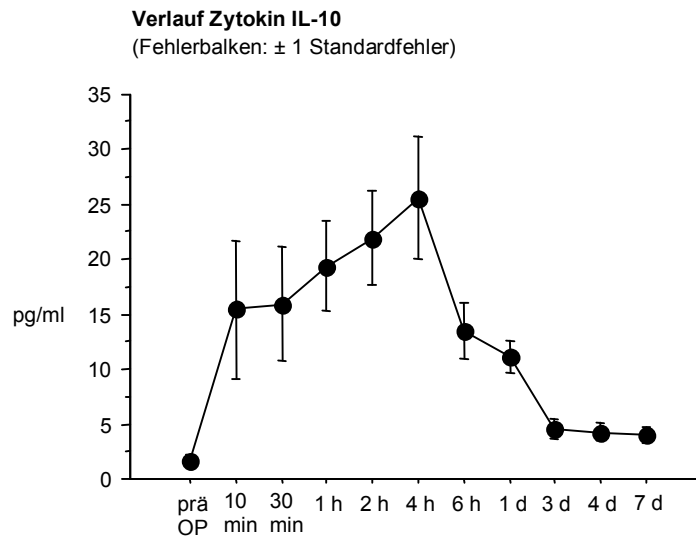


Abb. 3-2, Verlauf Zytokin IL-10 (ANOVA, $p < 0,0001$)

Tabelle 3-2 (ANOVA Fisher-PLSD)

relevante Zeitpunkte IL-10	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
T prä OP, T 10 min.	0,0023 (s)
T prä OP, T 30 min.	0,0016 (s)
T prä OP, T 1 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 2 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 4 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 6 h	0,0086 (s)
T prä OP, T 1 d	0,0369 (s)

3.2 Chemokine

3.2.1 MCP-1

Die Analyse des Chemokins MCP-1 zeigt im zeitlichen Verlauf Veränderungen in den Serumkonzentrationen von Patienten während und nach erfolgter Leberteilresektion. Die höchsten Serumkonzentrationen konnten zwischen 2 und 4 Stunden nach Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers gemessen werden ($p < 0,0001$), im weiteren Verlauf fallen die Konzentrationen nach 7 Tagen postoperativ annähernd auf die präoperativen Werte zurück.

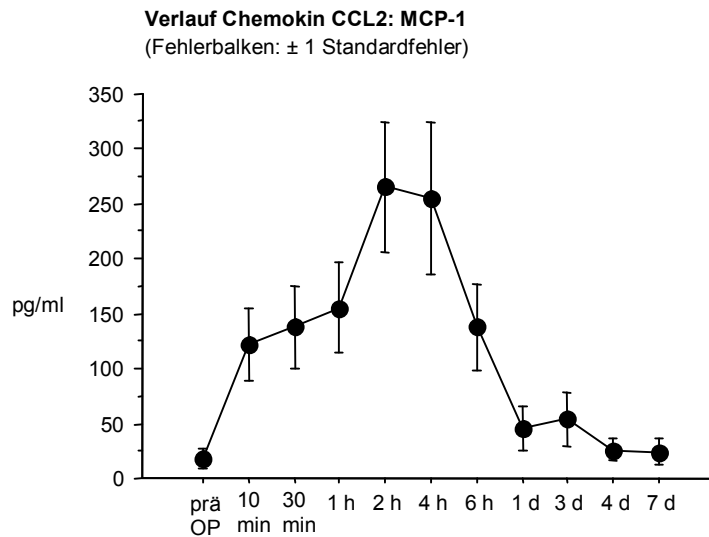


Abb. 3-3, Verlauf CCL2 MCP-1 (ANOVA, $p < 0,0001$)

Tabelle 3-3 (ANOVA Fisher-PLSD)

relevante Zeitpunkte MCP-1	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
T prä OP, T 10 min.	0,0167 (s)
T prä OP, T 30 min.	0,0062 (s)
T prä OP, T 1 h	0,0018 (s)
T prä OP, T 2 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 4 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 6 h	0,0063 (s)

3.2.2 IL-8

Die Analyse des Chemokins IL-8 zeigt im zeitlichen Verlauf Veränderungen in den Serumkonzentrationen von Patienten während und nach erfolgter Leberteilresektion. Die höchsten Serumkonzentrationen konnten 2 Stunden nach Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers gemessen werden ($p < 0,0001$), im weiteren Verlauf fallen die Konzentrationen nach 7 Tagen postoperativ unter die präoperativen Werte zurück.

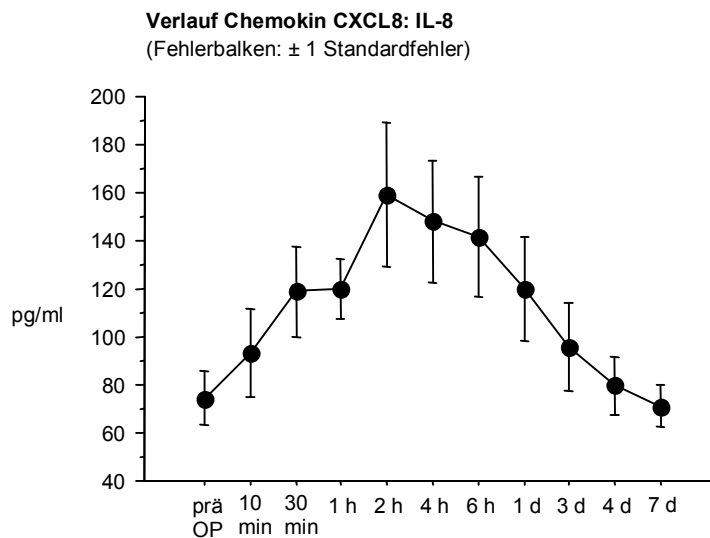


Abb. 3-4, Verlauf CXCL8 IL-8 (ANOVA, $p < 0,0001$)

Tabelle 3-4 (ANOVA Fisher-PLSD)

relevante Zeitpunkte IL-8	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
T prä OP, T 30 min.	0,0128 (s)
T prä OP, T 1 h	0,0105 (s)
T prä OP, T 2 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 4 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 6 h	0,0002 (s)
T prä OP, T 1 d	0,0105 (s)

3.2.3 MIG

Die Analyse des Chemokins MIG zeigt im zeitlichen Verlauf Veränderungen in den Serumkonzentrationen von Patienten während und nach erfolgter Leberteilresektion. Es konnte ein Abfall der Konzentrationen von MIG im zeitlichen Verlauf gemessen werden, welche sich nach 7 Tagen postoperativ nicht wieder erholten. Die geringsten Serumkonzentrationen konnten 1 Tag nach erfolgter Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers ermittelt werden ($p < 0,0001$).

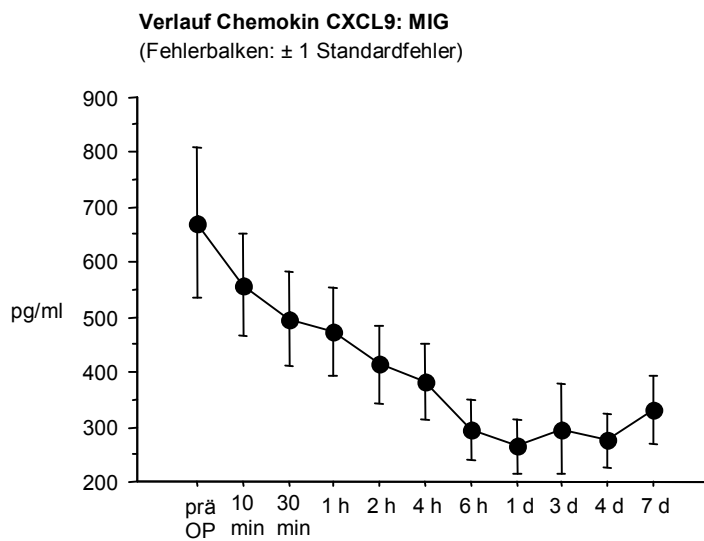


Abb. 3-5, Verlauf CXCL9 MIG (ANOVA, $p < 0,0001$)

Tabelle 3-5 (ANOVA Fisher-PLSD)

relevante Zeitpunkte MIG	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
T prä OP, T 30 min.	0,0305 (s)
T prä OP, T 1 h	0,0143 (s)
T prä OP, T 2 h	0,0015 (s)
T prä OP, T 4 h	0,0004 (s)
T prä OP, T 6 h	<0,0001 (s)
T prä OP, T 1 d	<0,0001 (s)
T prä OP, T 3 d	<0,0001 (s)
T prä OP, T 4 d	<0,0001 (s)
T prä OP, T 7 d	<0,0001 (s)

3.2.4 IP-10

Die Analyse des Chemokins IP-10 zeigt im zeitlichen Verlauf Veränderungen in den Serumkonzentrationen von Patienten während und nach erfolgter Leberteilresektion. Es konnte ein Abfall der Konzentrationen von IP-10 im zeitlichen Verlauf gemessen werden, welche sich nach 7 Tagen postoperativ nicht wieder erholten. Die geringsten Serumkonzentrationen konnten 7 Tage nach erfolgter Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers ermittelt werden ($p=0,0030$).

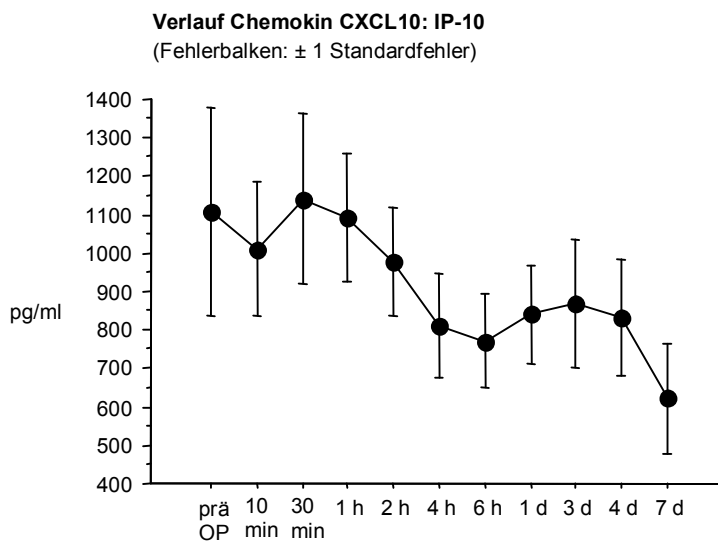


Abb. 3-6, Verlauf CXCL10 IP-10 (ANOVA, $p=0,0336$)

Tabelle 3-6 (ANOVA Fisher-PLSD)

relevante Zeitpunkte IP-10	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
T prä OP, T 6 h	0,0388 (s)
T prä OP, T 7 d	0,0030 (s)

3.3 Klinische Daten

3.3.1 Präoperative Daten

Innerhalb unseres Patientenkollektivs wurden insgesamt 15 Männer und 11 Frauen einer Leberteilresektion unterzogen. Es wurden mehr männliche Patienten mittels Hemihepatektomie oder erweiterter Resektion operiert.

Es wurden Patienten zwischen 36 und 77 Jahren einer Leberteilresektion unterzogen. Der Altersdurchschnitt lag im gesamten Kollektiv bei 60,5 Jahren, wobei die Patienten mit Segmentresektionen im Schnitt um 12,6 Jahre jünger als die Patienten mit Hemihepatektomien und erweiterten Resektionen waren.

Die überwiegende Anzahl der Patienten wurden einer Hemihepatektomie oder erweiterter Leberteilresektion unterzogen (n=14). Die häufigste Indikation zur Leberteilresektion waren kolorektale Metastasen (n=15). Zwei Patienten wurden aufgrund eines hepatozellulären Karzinoms (HCC in Zirrhose), sechs Patienten mit cholangiozellulären Karzinom und drei Patienten mit benignen Tumoren (2 Hämangiome, 1 Adenom) leberteilreseziert.

Tabelle 3-7

	Segmentresektionen	Hemihepatektomien und erweiterte Resektionen	Gesamt
Anzahl	12	14	26
Geschlecht männlich	4	11	15
Geschlecht weiblich	8	3	11
Alter	57,6 ± 14,7	62,9 ± 8,1	60,5 ± 11,9
HCC (in Zirrhose)	1	1	2
CCC	0	6	6
Metastasen (kolorekt.)	9	6	15
benigne Tumore	2 (Hämangiome)	1 (Adenom)	3
präoperativer MELD Score	7 ± 1	8,4 ± 1,8	7,7 ± 1,6

3.3.2 Intraoperative Daten

Aufgrund der bestehenden Tumormasse intrahepatisch wurden 12 Segmentresektionen und 14 Hemihepatektomien bzw. erweiterte Resektionen durchgeführt.

Das Resektionsgewicht lag im Gesamtkollektiv zwischen 45 und 2710 g. Das Mittel bei den Segmentresektionen lag bei 255 g und bei den Hemihepatektomien bzw. erweiterten Resektion bei 988,5 g Resektionsgewicht.

Insgesamt wurde bei 14 Patienten das Pringle-Manöver angewandt. Hiervon wurden bei 9 Segmentresektionen und bei 5 Hemihepatektomien und erweiterten Resektionen das Pringle-Manöver eingesetzt.

Die OP-Dauer lag im Gesamtkollektiv zwischen 91 und 360 Minuten, wobei der Hautschnitt den Operationsbeginn und die Hautnaht das Operationsende definiert. Segmentresektionen lagen mit im Mittel 180,5 Minuten kürzer als Hemihepatektomien und erweiterte Resektionen mit im Mittel 252,3 Minuten.

Als Präparationszeit wurde die Zeit vom Hautschnitt bis zur eigentlichen Leberteilresektion bezeichnet, diese lag im Mittel bei Segmentresektionen kürzer mit 88,6 Minuten als bei Hemihepatektomien und erweiterten Resektionen mit 145,2 Minuten.

Tabelle 3-8

	Segmentresektionen	Hemihepatektomien und erweiterte Resektionen	Gesamt
Anzahl	12	14	26
Resektat Gewicht (g)	255 ± 144	988,5 ± 549,7	650 ± 553,2
Zirrhose intraoperativ	1	1	2
OP-Zeit (min)	180,5 ± 52,4	252,3 ± 63,6	219,2 ± 68,7
OP-Zeit bis Resektion (min)=Präparationszeit	88,6 ± 45,8	145,2 ± 46,8	119,1 ± 54,3
Pringle-Manöver	9	5	14
Pringle-Zeit (min)	22 ± 8,8	21,8 ± 7,8	22 ± 8,5

3.3.3 Postoperative Daten

Der stationäre Aufenthalt der Patienten nach erfolgter Leberteileresektion lag zwischen 7 und 48 Tagen postoperativ im Gesamtkollektiv.

Bei Patienten mit Segmentresektion lag die Dauer des stationären Aufenthaltes im Mittel bei 11,5 Tagen, bei den Patienten mit Hemihepatektomien und erweiterten Resektionen lag der Durchschnitt bei 17 Tagen. Die Einteilung der postoperativen Komplikationen erfolgte nach Clavien (siehe Tabelle 3-10a und 3-10b). Die Komplikationen der Klasse I und II wurden in die Gruppe der Minor-Komplikationen und die der Klasse III bis V in die Gruppe der Major-Komplikationen zusammengefasst.

Hierbei zeigte sich, dass 9 Patienten postoperativ Minor-Komplikationen und 5 Patienten Major-Komplikationen entwickelt haben. Die Zuordnung erfolgte nach der Rangfolge des Schweregrades der postoperativen Komplikation. Bei insgesamt 12 Patienten verlief die postoperative Phase ohne Komplikationen.

Tabelle 3-9

	Segmentresektionen	Hemihepatektomien und erweiterte Resektionen	Gesamt
Anzahl stationärer Aufenthalt (Tage)	12	14	26
Komplikation Kl. 0	11,5 ± 6	17 ± 10,6	14,5 ± 9,2
Komplikation Kl. I	9	3	12
Komplikation Kl. II	2	6	8
Komplikation Kl. III	0	1	1
Komplikation Kl. IV	1	2	3
Komplikation Kl. V	0	0	0
Komplikation Kl. V	0	2 (davor Kl.IV)	2 (davor Kl.IV)
Patienten ohne Komplikation	9	3	12
Patienten mit Komplikation	3	11	14

Tabelle 3-10a: Clavien Klassifikation

Komplikationsklasse	Definition
Klasse 0	komplifikationsfrei
Klasse I	jegliche Abweichung vom normalen postoperativen Verlauf, ohne Einsatz einer medikamentösen oder interventionellen Therapie
Klasse II (Klasse I-II: Minor-Komplikationen)	Einsatz einer spezifischen medikamentösen Therapie
Klasse III	Einsatz einer operativen, endoskopischen oder radiologischen Intervention
Klasse IV	lebensbedrohliche Komplikation, die eine Verlegung auf Intensivstation notwendig macht
Klasse V (Klasse III-V: Major-Komplikationen)	Tod infolge einer Komplikation

Tabelle 3-10b: Zusammenfassung aller postoperativen Komplikationen nach Segmentresektion/Hemihepatektomie und erweiterten Resektionen

Komplikationen)*	Segmentresektion (n=12)	Hemihepatektomie/ erweiterte Resektion (n=14)
Anzahl Komplikationen gesamt)*	3	22
Klasse I		
Wundinfekt	1	5
Galleleck	1	4
Fieber	0	1
Darmatonie	0	1
Klasse II		
Anämie/Transfusionsbedarf	0	4
Harnwegsinfekt	0	1
Gesamt Minor-Komplikationen (Klasse I+II)	2	16
Klasse III		
Biliom	1	2
Klasse IV		
Nierenversagen/MOV	0	1
Kammerflimmern	0	1
Klasse V		
Tod	0	2
Gesamt Major-Komplikationen (Klasse III-V)	1	6

)* die Zuordnung zu den Klassen erfolgte nach Rangfolge des Schweregrades, bei möglichen Mehrfachkomplikationen war die am schwerstwiegende Komplikation maßgebend für die Zuordnung in Tabelle 3-9.

3.4 Zytokin- und Chemokininduktion im Zusammenhang mit klinischen Parametern

3.4.1 MELD Score

Der MELD-Score (MELD = Model of End Stage Liver Disease) dient der Abschätzung der Mortalität von Patienten im Endstadium einer Leberzirrhose, die sich auf der Warteliste zur Lebertransplantation befinden. Eingeführt wurde der MELD-Score 2002 von der United Network for Organ Sharing (UNOS). Er basiert lediglich auf drei Parametern, die von Wissenschaftlern der Mayo Klinik in USA als die zuverlässigsten Prädiktoren des Verlaufs einer schweren, transplantationspflichtigen Lebererkrankung (und damit der relativen Schwere der Krankheit und der erwarteten verbleibenden Lebensdauer) herausgefiltert wurden:

Gesamt-Bilirubin im Serum, Kreatinin im Serum und die Blutgerinnungszeit gemessen als INR (International Normalized Ratio).

Der MELD-Score dient in unserer Studie der Einschätzung der Leberfunktion vor und nach Leberteileresektion.

Die Formel zur Berechnung lautet:

$$\text{MELD} = 10[0,957 \text{ Ln}(\text{Serumkreatinin}) + 0,378 \text{ Ln}(\text{Bilirubin ges.}) + 1,12 \text{ Ln}(\text{INR}) + 0,643]$$

Der Score liegt zwischen minimal 6 und maximal 40 Punkten, je höher der Wert, desto schwerwiegender ist die Erkrankung. Bei Patienten mit Tumoren erfolgt eine Anpassung des MELD-Scores.

Gemessen an der Obergrenze der Referenzwerte für Gesamt-Bilirubin (<1,2 mg/dl) und Kreatinin im Serum (<1,09 mg/dl) liegt der Normalwert des MELD-Scores zwischen 6 und 8 Punkten. Ein Referenzwert kleiner 1 kann aufgrund des Logarithmus nicht in die Formel eingesetzt werden, daher ist der kleinste Eingabewert 1 für Gesamt-Bilirubin, Kreatinin und INR.

Der präoperative MELD-Score lag im Gesamtkollektiv im Mittel zwischen minimal 7,8 und maximal 13,7 Punkten. Die Abb. 3-7 zeigt den postoperativen Verlauf nach erfolgter Leberteilresektion, hier konnten maximale Werte vor allem am ersten postoperativen Tag bis zu 24 Punkten gemessen werden.

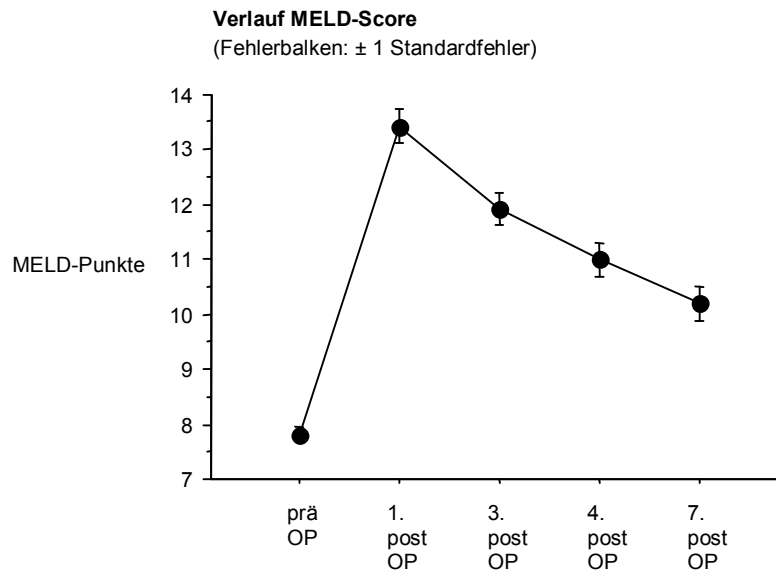


Abb. 3-7, Verlauf MELD-Score (ANOVA, $p < 0,0001$)

Tabelle 3-11 (ANOVA Fisher-PLSD)

MELD-Score	Signifikanz P-Wert gegenüber Ausgangswert
prä OP, 1. post OP	<0,0001 (s)
prä OP, 3. post OP	<0,0001 (s)
prä OP, 4. post OP	<0,0001 (s)
prä OP, 7. post OP	<0,0001 (s)

Die Serumkonzentrationen des Zytokins IL-6 im Verlauf zeigte longitudinal im Zusammenhang mit den Daten des präoperativen MELD-Scores insgesamt keine Signifikanz ($p=0,0505$). Im nichtparametrischen Test weisen die Patienten mit einem präoperativen MELD-Score von mehr als 7 Punkten zu den Zeitpunkten von 10 Minuten bis 1 Tag postoperativ signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-6 auf.

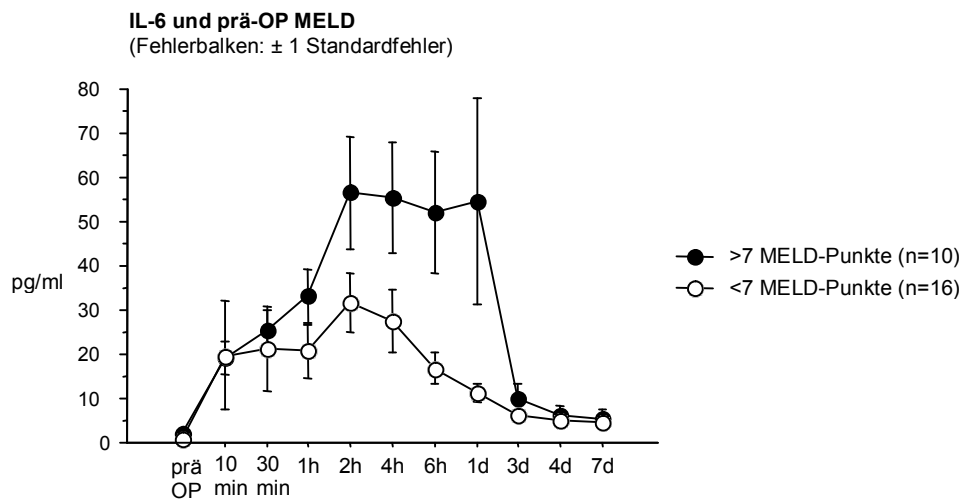


Abb. 3-8, IL-6 und prä-OP MELD-Score P-Wert 0,0505 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-12: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IL-6 und prä-OP MELD-Score

Zeitpunkte	P-Wert
T 10 min.	0,0177 (s)
T 30 min.	0,0452 (s)
T 1h	0,0452 (s)
T 2h	0,0398 (s)
T 4h	0,0204 (s)
T 6h	0,0032 (s)
T 1d	0,0037 (s)

Die Serumkonzentrationen des Chemokins MIG im Verlauf zeigte longitudinal im Zusammenhang mit den Daten des präoperativen MELD-Scores signifikante Unterschiede ($p=0,0448$). Patienten mit einem präoperativen MELD-Score von mehr als 7 Punkten, und somit leichter Einschränkung der Leberfunktion, wiesen höhere Serumkonzentrationen von MIG auf.

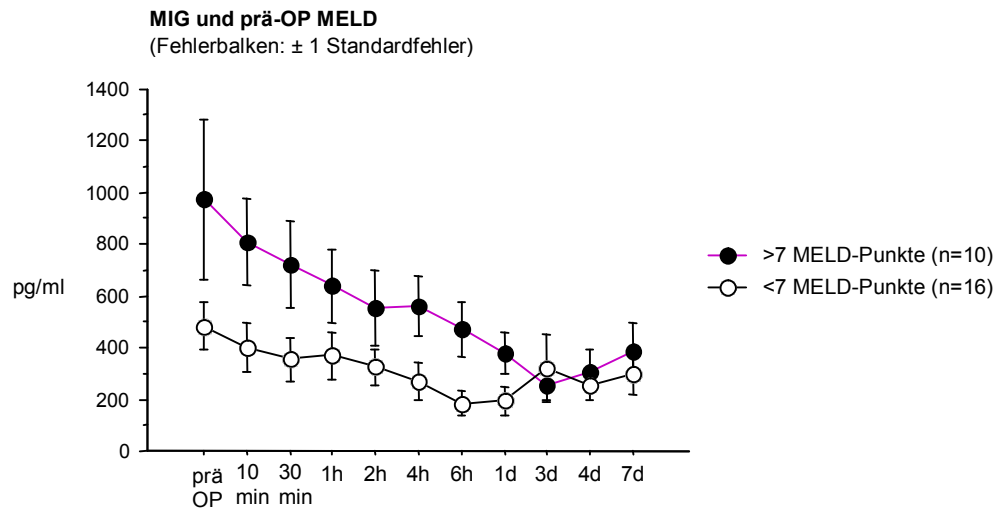


Abb. 3-9, MIG und prä-OP MELD-Score P-Wert: 0,0448 (s.)
(ANOVA)

Die Untersuchung des postoperativen maximalen MELD-Scores zeigt, dass Patienten mit eingeschränkter postoperativer Leberfunktion longitudinal eine signifikant höhere Serumkonzentration des Zytokins IL-6 aufweisen ($p=0,0388$).

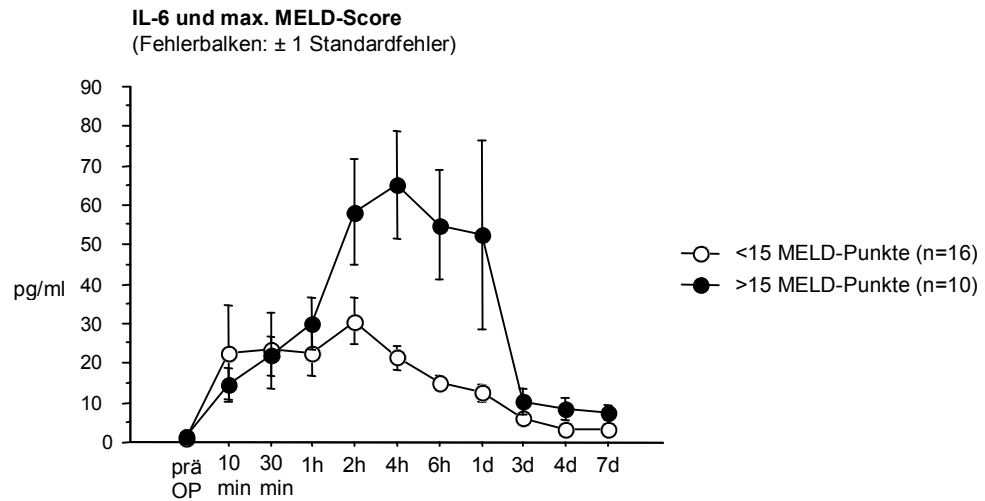


Abb. 3-10, IL-6 und maximaler MELD-Score postoperativ P-Wert: 0,0388 (s.) (ANOVA)

3.4.2 Chirurgische Parameter

Tabelle 3-13: Übersicht Zytokine/Chemokine und chirurgische Parameter

Resektionsarten (Hemihepatekt./Segmentres.)	P-Wert	Signifikanz (longitudinal)
IL-6	0,0602	n.s.)*
IL-10	0,8360	n.s.
IL-8	0,1072	n.s.)*
MIG	0,6526	n.s.
IP-10	0,4135	n.s.
MCP-1	0,1779	n.s.
Resektionsgewicht (>500g/<500g)	P-Wert	Signifikanz (longitudinal)
IL-6	0,0801	n.s.
IL-10	0,8927	n.s.
IL-8	0,1108	n.s.
MIG	0,1105	n.s.
IP-10	0,0602	n.s.
MCP-1	0,0983	n.s.)*
Pringlemanöver (ja/nein)	P-Wert	Signifikanz (longitudinal)
IL-6	0,1873	n.s.
IL-10	0,5195	n.s.
IL-8	0,2451	n.s.
MIG	0,4987	n.s.
IP-10	0,6589	n.s.
MCP-1	0,7788	n.s.
Pringlezeit (>20 min./<20 min.)	P-Wert	Signifikanz (longitudinal)
IL-6	0,7281	n.s.
IL-10	0,1824	n.s.
IL-8	0,5825	n.s.)*
MIG	0,1434	n.s.
IP-10	0,3185	n.s.
MCP-1	0,1244	n.s.)*
OP-Dauer (>240 min./<240 min.)	P-Wert	Signifikanz (longitudinal)
IL-6	0,1471	n.s.)*
IL-10	0,6788	n.s.
IL-8	0,0819	n.s.
MIG	0,3491	n.s.
IP-10	0,5189	n.s.
MCP-1	0,1185	n.s.
Präparationszeit (>100 min./<100 min.)	P-Wert	Signifikanz (longitudinal)
IL-6	0,0219	s.)*
IL-10	0,5964	n.s.
IL-8	0,4817	n.s.
MIG	0,8665	n.s.
IP-10	0,1029	n.s.)*
MCP-1	0,7503	n.s.

)*Diagramme s.u.

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-6 im Zusammenhang mit dem Ausmaß der durchgeführten Leberteilresektion zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,0602$).

Nichtparametrisch weisen die Serumkonzentrationen von IL-6 zu den Zeitpunkten 10 und 30 Minuten nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen einer Segmentresektion und einer Hemihepatektomie / erweiterten Resektion auf.

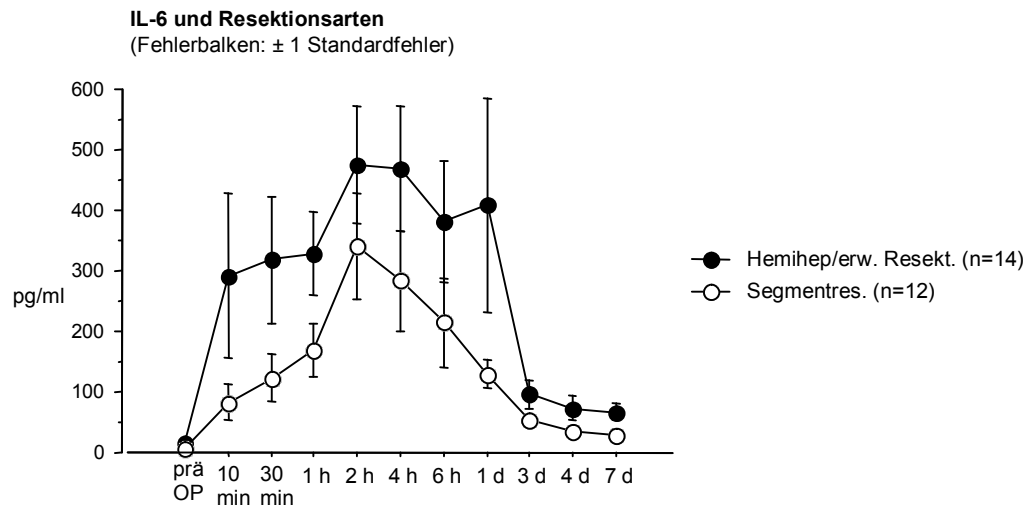


Abb. 3-11, IL-6 und Resektionsarten (Hemihepatektomien, Segmentresektionen) P-Wert: 0,0602 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-14: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IL-6 und Resektionsarten

Zeitpunkte	P-Wert
T 10 min.	0,0449 (s)
T 30 min.	0,0449 (s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-8 im Zusammenhang mit dem Ausmaß der durchgeführten Leberteilresektion zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,1072$).

Nichtparametrisch weisen die Serumkonzentrationen von IL-8 zum Zeitpunkt 1 Stunde nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen einer Segmentresektion und einer Hemihepatektomie / erweiterten Resektion auf.

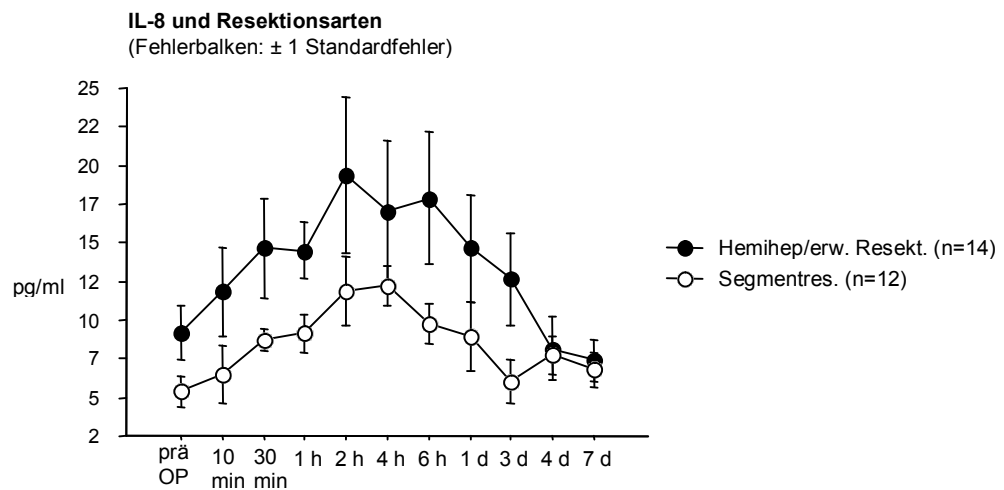


Abb. 3-12, IL-8 und Resektionsarten (Hemihepatektomien, Segmentresektionen) P-Wert: 0,1072 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-15: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IL-8 und Resektionsarten

Zeitpunkte	P-Wert
T 1h	0,0221 (s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von MCP-1 im Zusammenhang mit dem Resektionsgewicht zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,0983$).

Nichtparametrisch weist die Serumkonzentration von MCP-1 zu dem Zeitpunkt 10 Minuten nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied bei einem Resektionsgewicht über und unter 500 g auf.

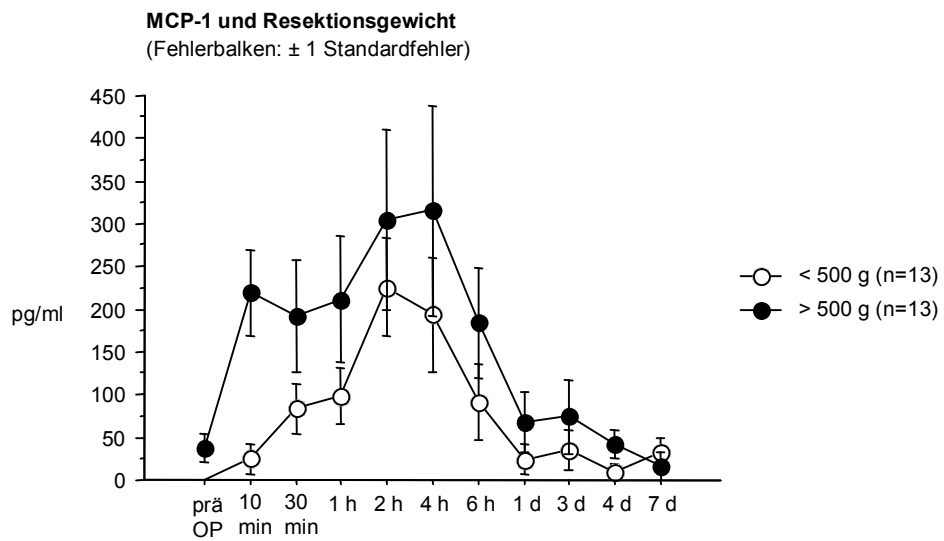


Abb. 3-13, MCP-1 und Resektionsgewicht P-Wert: 0,0983 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-16: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für MCP-1 und Resektionsgewicht

Zeitpunkte	P-Wert
T 10 min.	0,0061(s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von MCP-1 im Zusammenhang mit der Pringlezeit zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,1244$).

Nichtparametrisch weist die Serumkonzentration von MCP-1 zu dem Zeitpunkt 2 Stunden nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen einer Pringlezeit von über und unter 20 Minuten auf.

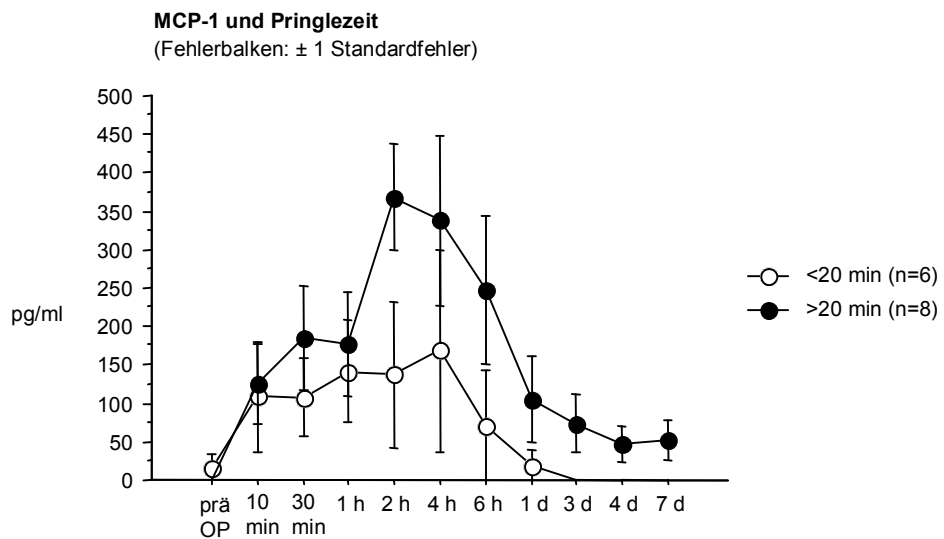


Abb. 3-14, MCP-1 und Pringlezeit P-Wert: 0,1244 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-17: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für MCP-1 und Pringlezeit

Zeitpunkte	P-Wert
T 2h	0,0282 (s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-8 im Zusammenhang mit der Pringlezeit zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,5825$).

Nichtparametrisch weist die Serumkonzentration von IL-8 zu dem Zeitpunkt 1 Tag postoperativ nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen einer Pringlezeit von über und unter 20 Minuten auf.

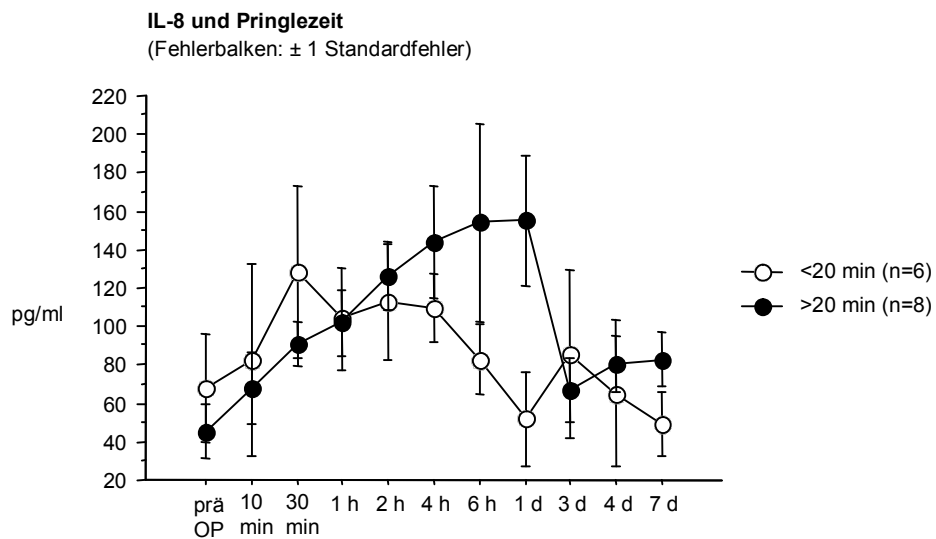


Abb. 3-15, IL-8 und Pringlezeit P-Wert: 0,5825 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-18: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IL-8 und Pringlezeit

Zeitpunkte	P-Wert
T 1 d	0,0389 (s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-6 im Zusammenhang mit der Operationsdauer zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,1471$).

Nichtparametrisch weist die Serumkonzentration von IL-6 zu den Zeitpunkten 10 Minuten, 30 Minuten und 1 Stunde nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen einer Operationsdauer von über und unter 240 Minuten auf.

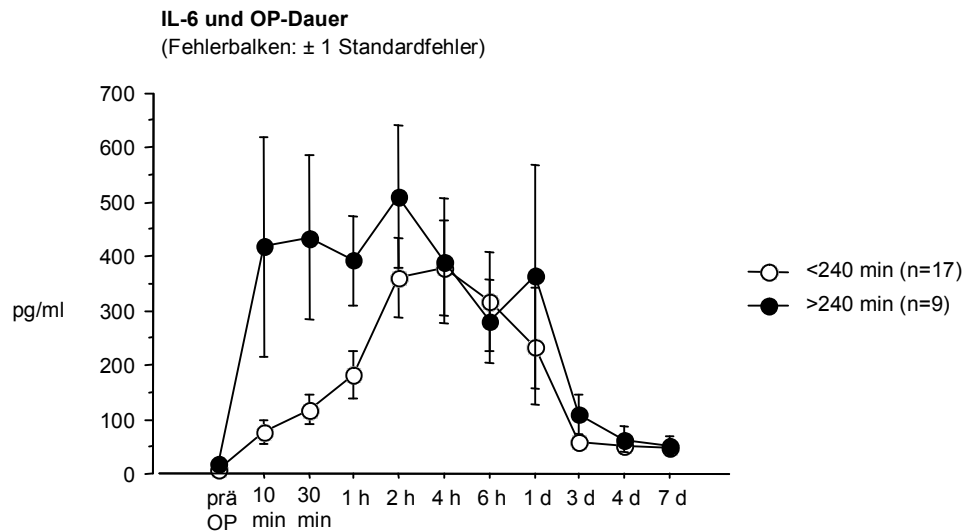


Abb. 3-16, IL-6 und OP-Dauer P-Wert: 0,1471 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-19: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IL-6 und OP-Dauer

Zeitpunkte	P-Wert
T 10 min.	0,0047 (s)
T 30 min.	0,0076 (s)
T 1h	0,0105 (s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-6 im Zusammenhang mit der Präparationszeit bis zur eigentlichen Resektion zeigte longitudinal einen signifikanten Unterschied bei einer Präparationszeit von über und unter 100 Minuten.

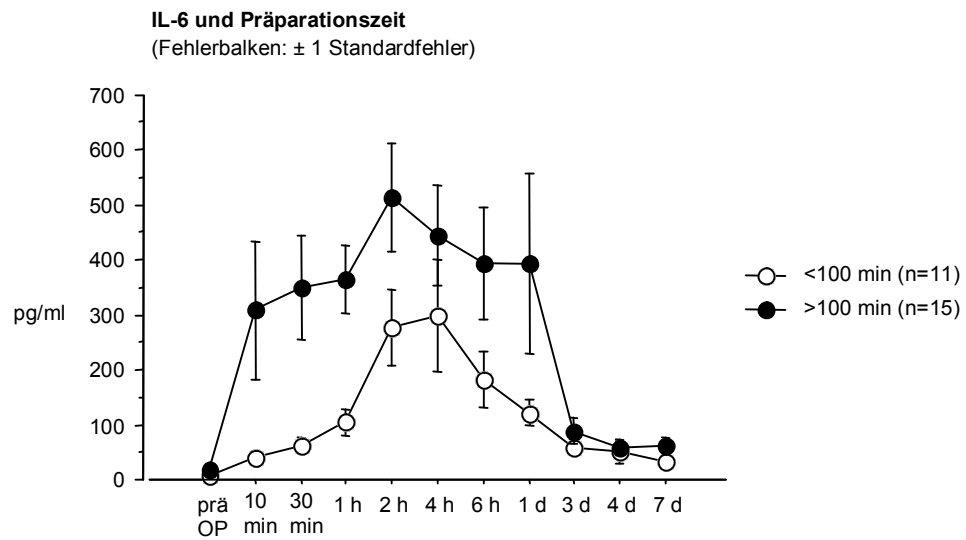


Abb. 3-17, IL-6 und Präparationszeit P-Wert: 0,0219 (s)
(ANOVA)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IP-10 im Zusammenhang mit der Präparationszeit zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,1029$).

Nichtparametrisch weist die Serumkonzentration von IP-10 zu den Zeitpunkten 1 und 2 Stunden nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen einer Präparationszeit von über und unter 100 Minuten auf.

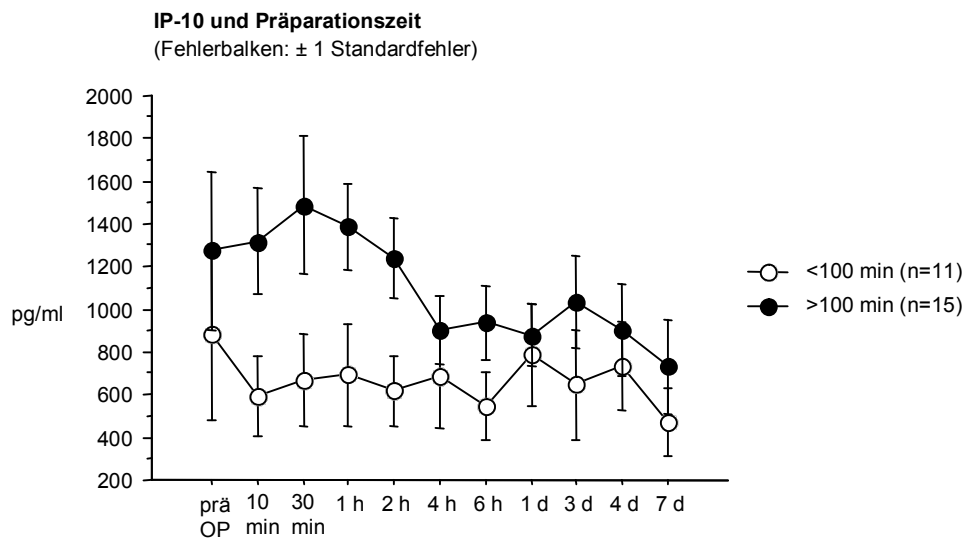


Abb. 3-18, IP-10 und Präparationszeit P-Wert: 0,1029 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-20: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IP-10 und Präparationszeit

Zeitpunkte	P-Wert
T 1 h	0,0313(s)
T 2 h	0,0293 (s)

3.4.3 Laborchemische Parameter

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-6 im Zusammenhang mit der Serumkonzentration von Bilirubin präoperativ zeigte longitudinal keine Signifikanz ($p=0,1680$).

Nichtparametrisch weist die Serumkonzentration von IL-6 zu den Zeitpunkten 4 und 6 Stunden nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers einen signifikanten Unterschied zwischen dem Gesamt-Bilirubin im Serum präoperativ von über und unter 1 mg/dl auf.

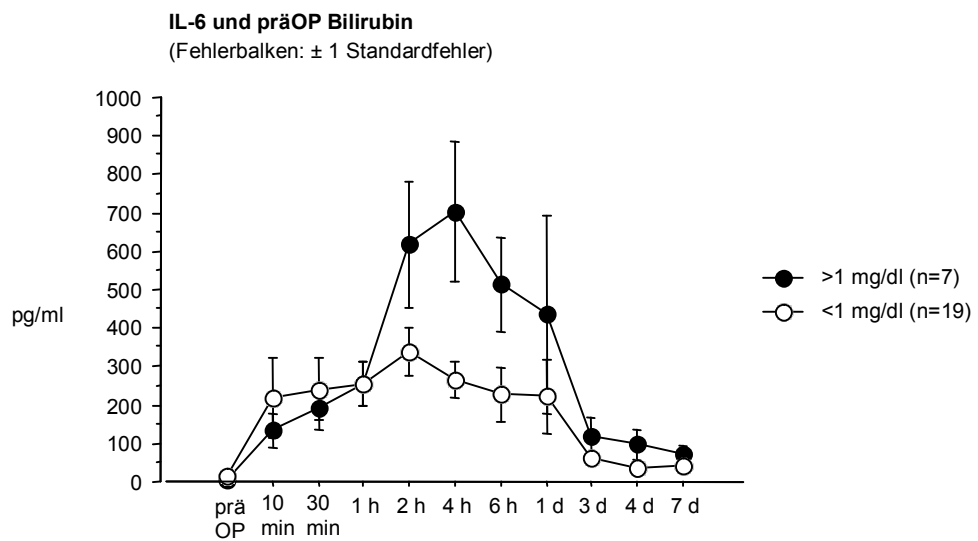


Abb. 3-19, IL-6 und präoperatives Bilirubin im Serum P-Wert: 0,1680 (n.s.) (ANOVA)

Tabelle 3-21: Mann-Whitney-Test, nichtparametrisch für IL-6 und präOP Bilirubin

Zeitpunkte	P-Wert
T 4 h	0,0164 (s)
T 6 h	0,0224 (s)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von IL-8 im Zusammenhang mit der Serumkonzentration des Gesamt-Bilirubins präoperativ zeigte longitudinal einen signifikanten Unterschied zwischen dem Gesamt-Bilirubin im Serum präoperativ von über und unter 1 mg/dl.

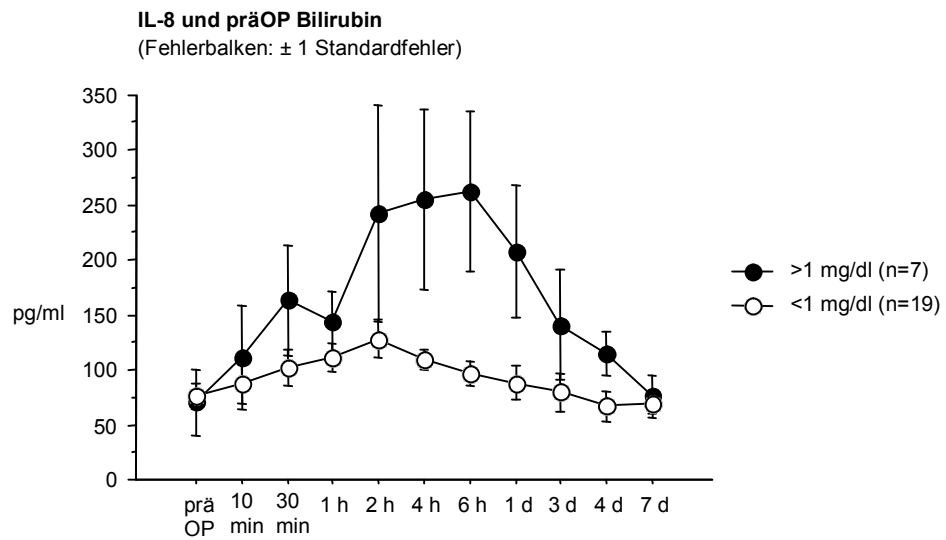


Abb. 3-20, IL-8 und präoperatives Bilirubin im Serum P-Wert: 0,0374 (s) (ANOVA)

Die Serumkonzentration von IL-8 wurde hier im Kontext mit dem Ausmaß der Resektion und dem präoperativ gemessenen Gesamt-Bilirubin im Serum analysiert. Patienten, welche präoperativ ein Serumbilirubin von über 1 mg/dl aufwiesen und bei denen das Resektatgewicht über 500 g lag, zeigten longitudinal signifikant höhere Serumspiegel von IL-8.

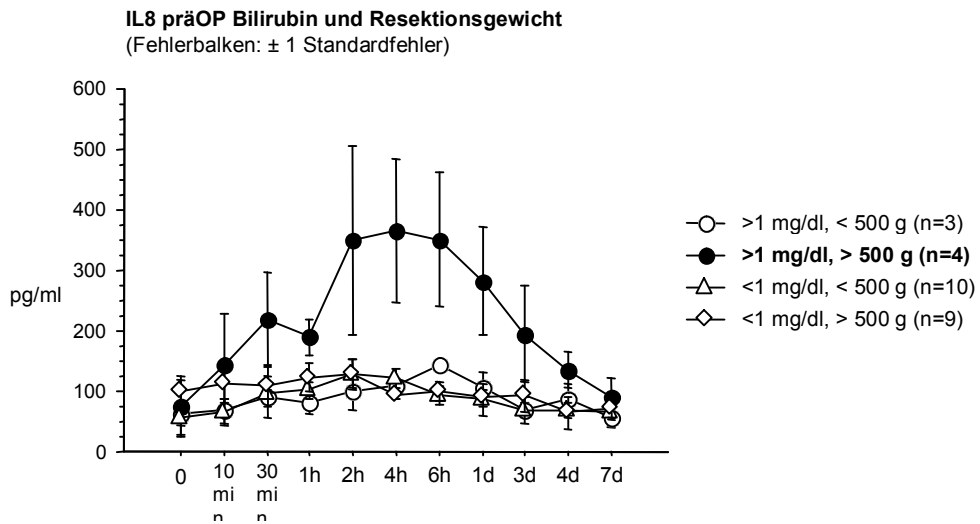


Abb. 3-21, IL-8 und präoperatives Bilirubin im Serum im Zusammenhang mit einem Resektionsgewicht von >500g; P-Wert für präOP Bilirubin >1mg/dl und >500g Resektionsgewicht: 0,0012 (s) (ANOVA)

Die Analyse der gemessenen Serumkonzentrationen von MCP-1 im Zusammenhang mit der Serumkonzentration des Gesamt-Bilirubins präoperativ zeigte longitudinal einen signifikanten Unterschied zwischen dem Serumbilirubin präoperativ von über und unter 1 mg/dl.

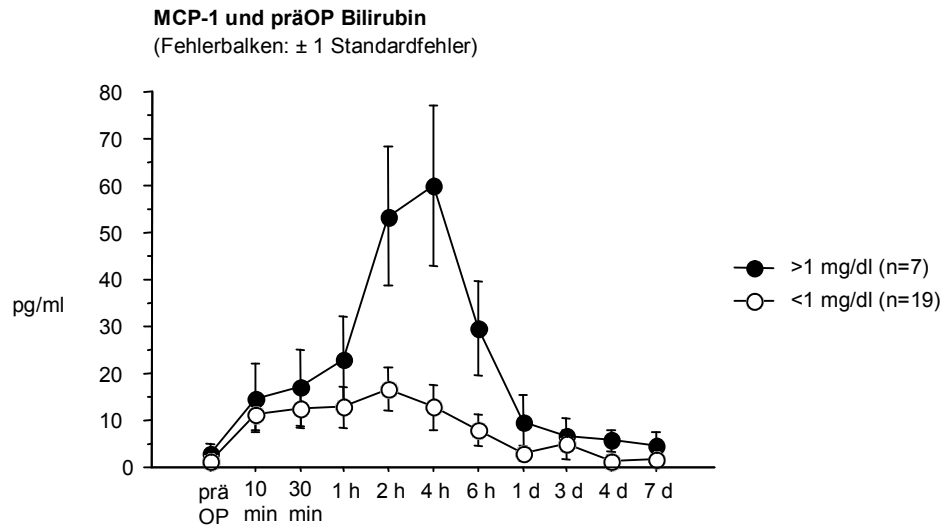


Abb. 3-22, MCP-1 und präoperatives Bilirubin im Serum P-Wert: 0,0117 (s) (ANOVA)

Die Serumkonzentration von MCP-1 wurde hier im Kontext mit dem Ausmaß der Resektion und dem präoperativ gemessenen Gesamt-Bilirubin im Serum analysiert. Patienten, welche präoperativ ein Serumbilirubin von über 1 mg/dl aufwiesen und bei denen das Resektatgewicht über 500 g lag, zeigten longitudinal signifikant höhere Serumspiegel von MCP-1.

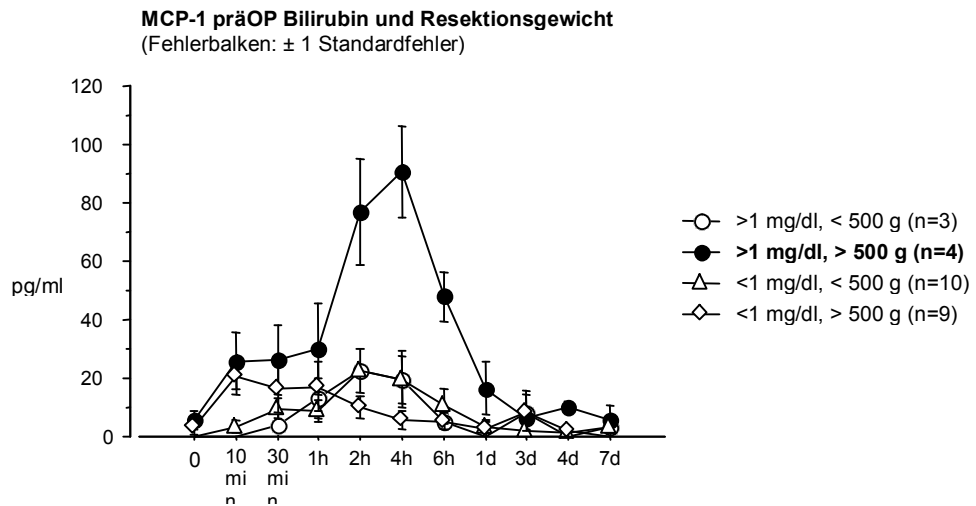


Abb. 3-23, MCP-1 und präoperatives Bilirubin im Serum im Zusammenhang mit einem Resektionsgewicht von >500 g; P-Wert für präOP Bilirubin >1 mg/dl und >500 g Resektionsgewicht: $<0,0001$ (s) (ANOVA)

3.4.4 Komplikationen

Die Untersuchung der gemessenen Zytokinausschüttung von IL-6 im Verlauf nach Leberteilresektion im Kontext der postoperativen Komplikationen weist einen Zusammenhang auf. Patienten, die postoperativ Komplikationen zeigten, hatten longitudinal signifikant höhere Serumspiegel von IL-6.

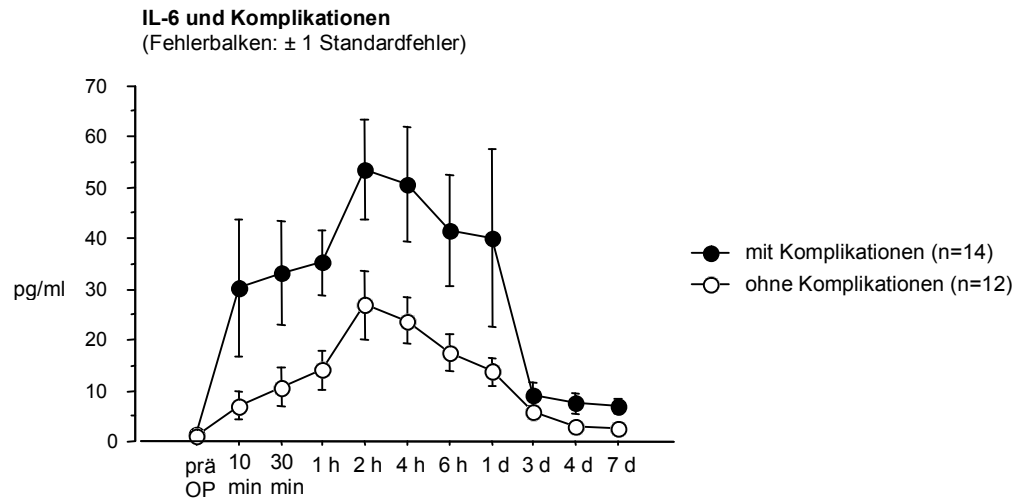


Abb. 3-24, IL-6 und postoperative Komplikationen P-Wert: 0,0154 (s) (ANOVA)

Die Untersuchung der gemessenen Zytokinausschüttung von IL-8 im Verlauf nach Leberteilresektion im Kontext der postoperativen Komplikationen weist einen Zusammenhang auf. Patienten, die postoperativ Komplikationen zeigten, hatten longitudinal signifikant höhere Serumspiegel von IL-8.

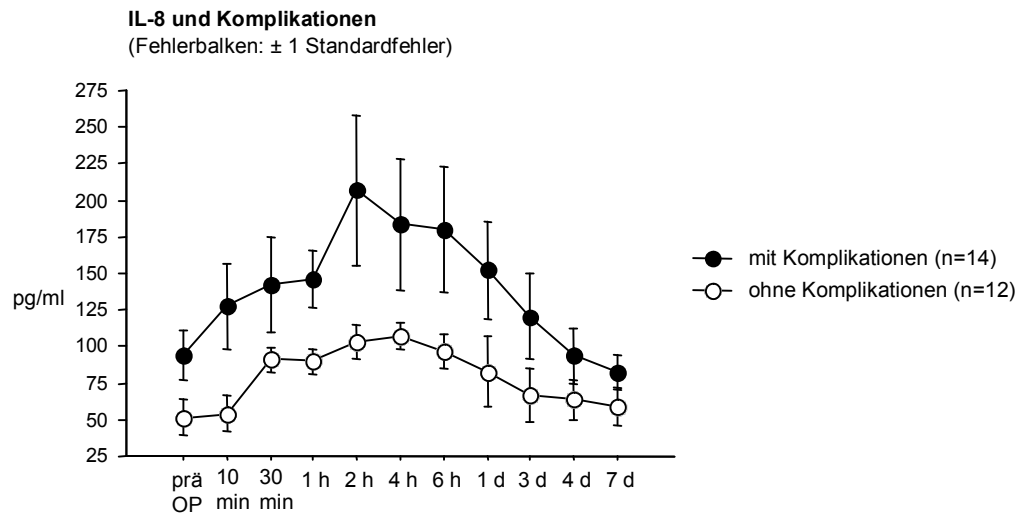


Abb. 3-25, IL-8 und postoperative Komplikationen P-Wert: 0,0453 (s) (ANOVA)

Die Analyse von MCP-1 in Zusammenhang mit postoperativen Komplikationen weist bei Patienten mit einem MELD-Score von über 15 Punkten postoperativ einen signifikanten Unterschied auf. Patienten, welche postoperativ einen maximalen MELD-Score von über 15 Punkten aufwiesen, zeigten signifikant häufiger Komplikationen als Patienten mit einem maximalen postoperativen MELD-Score von unter 15 Punkten.

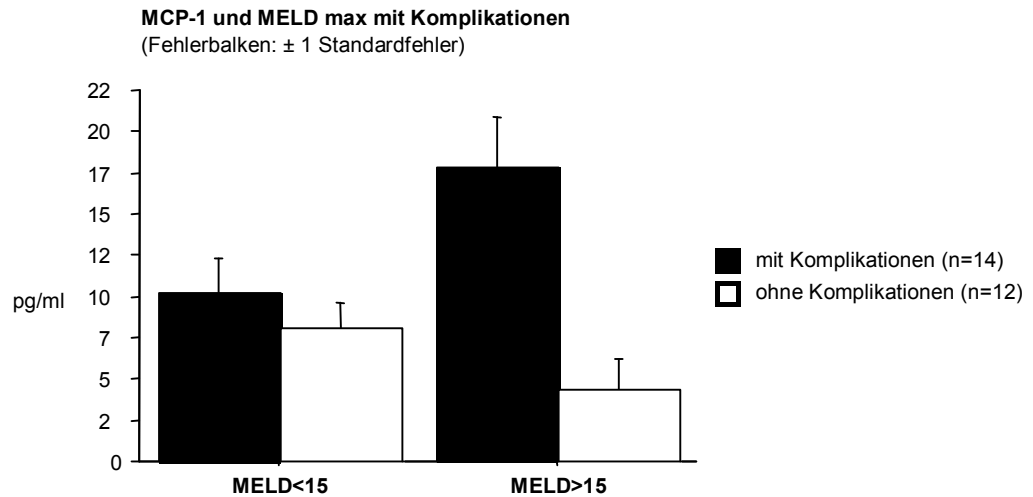


Abb. 3-26, MCP-1 und postoperative Komplikationen bei hohem MELD-Score P-Wert: 0,0472 (s) (ANOVA)

3.4.5 Stationärer Aufenthalt

In unserem Kollektiv lag der Durchschnitt des stationären Aufenthaltes bei 14,5 Tagen, wobei Patienten mit Segmentresektionen im Schnitt 11,5 und Patienten mit Hemihepatektomien bzw. erweiterten Resektionen im Mittel 17 Tage stationär behandelt wurden. Aufgrund dieser Ergebnisse in unserem Kollektiv wurde als untere Grenze ein stationärer Aufenthalt von 11 Tagen festgelegt.

Die Untersuchung der gemessenen Chemokinausschüttung von IL-8 im Verlauf nach Leberteilresektion im Zusammenhang mit dem postoperativen stationären Aufenthalt zeigt, dass Patienten mit einem stationären Aufenthalt von über 11 Tagen longitudinal signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-8 aufweisen als Patienten, die einer kürzeren stationären Behandlung bedurften.

(*zwei Patienten verstarben innerhalb des gemessenen Zeitrahmens, daher wurden diese bei der Berechnung des stationären Aufenthaltes nicht berücksichtigt)

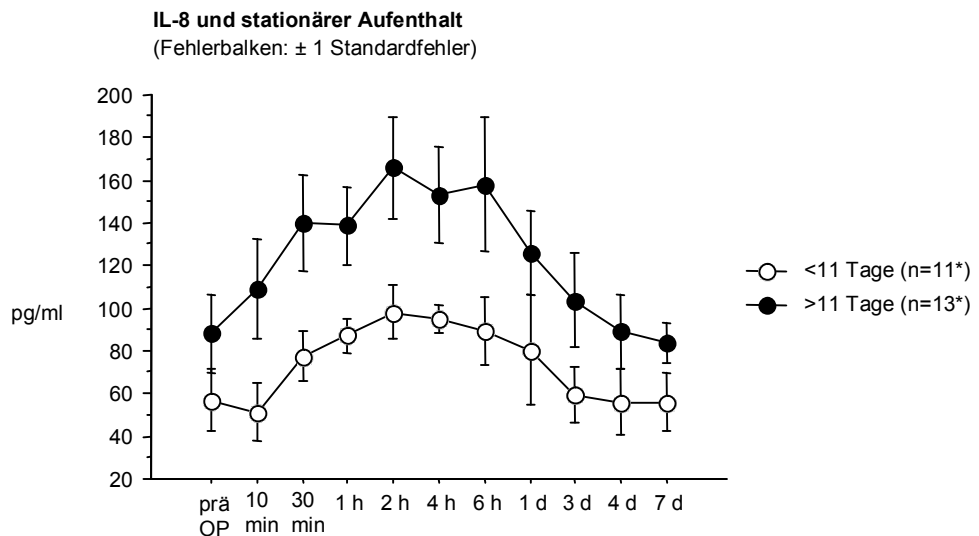


Abb. 3-27, IL-8 und postoperativer stationärer Aufenthalt P-Wert: 0,0453 (s) (ANOVA)

Die Untersuchung der gemessenen Chemokinausschüttung von MCP-1 im Verlauf nach Leberteileresektion im Zusammenhang mit dem postoperativen stationären Aufenthalt zeigt, dass Patienten mit einem stationären Aufenthalt von über 11 Tagen longitudinal signifikant höhere Serumkonzentrationen von MCP-1 aufweisen als Patienten, die einer kürzeren stationären Behandlung bedurften.

(*zwei Patienten verstarben innerhalb des gemessenen Zeitrahmens, daher wurden diese bei der Berechnung des stationären Aufenthaltes nicht berücksichtigt)

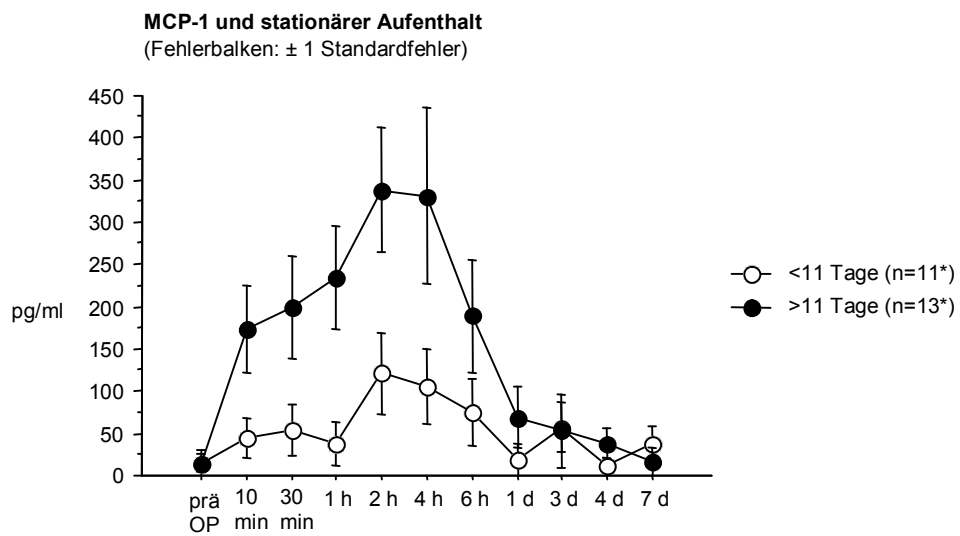


Abb. 3-28, MCP-1 und postoperativer stationärer Aufenthalt P-Wert: 0,0190 (s) (ANOVA)

4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit ist es, die systemische Freisetzung der Zytokine IL-6 und IL-10 und der Chemokine MCP-1, IL-8, MIG und IP-10 im zeitlichen Verlauf nach klinischer Leberteilresektion zu untersuchen und mögliche Zusammenhänge mit klinischen Parametern und dem postoperativen Verlauf zu analysieren. Aufgrund der insbesondere in der frühen postoperativen Phase zu erwartenden Dynamik der Serumspiegelveränderungen wurde eine engmaschige Messung vorgenommen.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen die Einbettung der genannten Faktoren in das proinflammatorische Netzwerk, das nach Leberteilresektion systemisch aktiviert wird und Teil der physiologischen Anpassungsmechanismen des Organismus nach dem chirurgischen Trauma ist. Die hier dokumentierte systemische Freisetzung der Faktoren und der zeitliche Ablauf trägt zum Verständnis der inflammatorisch regulierten Kompensationsmechanismen nach Leberteilresektion bei. Unsere Untersuchung erlaubt die Identifikation von Zusammenhängen zwischen operativem Trauma, Ausschüttung von Akute-Phase-Proteinen und proinflammatorischen Faktoren und dem sich anschließenden postoperativen Verlauf.

4.1 Methodik

Für die Analyse der hier ermittelten Zytokine und Chemokine wurde die Technologie des cytometric bead array (CBA) angewandt. Der Vorteil des CBA gegenüber bisher angewandten Verfahren, wie z. B. des ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), liegt in der Möglichkeit multiple Analyten simultan in einer biologischen Probe mit geringem Volumen nachzuweisen. Diese Eigenschaften des Assays werden insbesondere den Anforderungen an einen in der klinischen Analytik eingesetzten Test gerecht. In unterschiedlichen Studien, welche sich mit der Analyse von Zytokinen und Chemokinen beschäftigten, wurde das Verfahren des CBA bereits reproduzierbar angewandt (30, 31, 32).

4.2 Patienten

Die Seren von insgesamt 26 Patienten wurden über einen Zeitraum von 7 Tagen mit engen Zeitintervallen, insbesondere in der frühen postoperativen Phase, analysiert. Die Auswahl der Patienten erfolgte lediglich nach Indikationsstellung zur Leberteilresektion ohne Berücksichtigung von Alter, Geschlecht, Diagnose oder Art der Resektion. Die Heterogenität des Kollektivs und die limitierte Zahl von Patienten schränkt die statistische Aussagekraft der Untersuchung ein. Auf der anderen Seite erlaubt die

engmaschige Überwachung der Prüfparameter eine genaue Abbildung der Dynamik der Serumspiegelveränderungen. Dies erlaubt in weiteren Untersuchungen eine spezifische Auswahl der Messzeitpunkte, um die klinische Bedeutung der gefundenen Veränderungen zu erhärten und die Zusammenhänge zwischen klinischer Leberteilresektion und der inflammatorischen Antwort diagnostisch nutzbar zu machen.

4.3 Untersuchte Zytokine und Chemokine

Sowohl die Zytokine IL-6 und IL-10 als auch die Chemokine MCP-1 und IL-8 wiesen in der Analyse einen signifikanten Anstieg in den Serumkonzentrationen im zeitlichen Verlauf bereits bei 10 bzw. 30 Minuten nach Leberteilresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers auf. Nach sieben Tagen postoperativ fielen die Konzentrationen annähernd auf die präoperativen Werte zurück.

Die Chemokine MIG und IP-10 zeigten einen Konzentrationsabfall, der sich nach sieben Tagen postoperativ nicht wieder auf präoperative Werte erholte.

Kimura et al. konnten u. a. für IL-6, IL-10, IL-8 und MCP-1 ebenfalls ähnliche Verläufe nach klinischer Leberteilresektion nachweisen. Hier wurden mittels ELISA signifikante Veränderungen der Serumkonzentrationen unmittelbar postoperativ und anschließend am 1. postoperativen Tag gemessen (33). Angelehnt an die Arbeiten von Markiewski et al. und Strey et al. (10,20), welche im Tierversuch eine frühzeitige Aktivierung des Komplementsystems und deren Bedeutung für die Leberregeneration darstellen konnten, zeigte sich in unserer Studie z. T. bereits nach 10 Minuten nach Leberresektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers und Reperfusion signifikante Serumspiegel von IL-6, IL-10, IL-8 und MCP-1. Dies könnte ein Hinweis auf eine unmittelbare Kaskadenaktivierung der Akute-Phase-Antwort nach operativem Trauma sein. Von einer spezifischen Antwort auf das Lebertrauma kann allerdings im Hinblick auf die Arbeit von Aosasa et al. nicht ausgegangen werden. Hier wurden u. a. die postoperativen Serumspiegel von IL-6 nach Ösophagusresektion mit Magenhochzug/thorakaler Anastomose und nach distaler Gastrektomie mit Rekonstruktion nach Billroth I verglichen. Die Patienten mit erfolgter Ösophagusresektion wiesen analog zum größeren operativen Trauma höhere Serumspiegel von IL-6 auf (34). Auch in unserer Studie zeigten sich Unterschiede in den Serumkonzentrationen von IL-6, IL-10 und IL-8 in Abhängigkeit vom Resektionsausmaß (s.u.).

Der Konzentrationsabfall im Serum der Patienten von MIG und IP-10 wirft in unserer Studie Fragen auf. Hinsichtlich ihrer Eigenschaften, u. a. antiangiogen zu wirken und die Proliferation und Migration von Endothel- und

Tumorzellen zu hemmen (17, 18, 35), kann im Zusammenhang mit unserer Untersuchung nur von einer mutmaßlichen Unterdrückung dieser Chemokine ausgegangen werden. Da für die Regeneration nach Leberteileresektion bzw. nach operativem Trauma u. a. die Proliferation und Migration von Endothelzellen und eine vaskuläre Reorganisation wichtige physiologische Reaktionen auf das Trauma darstellen, würde eine überschüssige Ausschüttung von MIG und IP-10, als hemmende Faktoren der Angiogenese und Zellmigration, diese essentiellen Regenerationsabläufe stören. Auf welcher Ebene der komplexen Akute-Phase-Antwort die Unterdrückung von MIG und IP-10 stattfindet, konnte im Rahmen unserer Arbeit nicht geklärt werden, hier sind weitere Studien notwendig.

4.4 Einfluss auf klinische Parameter

4.4.1 MELD-Score

Zur Objektivierung der prä- und postoperativen Leberfunktion wurde angelehnt an die Arbeit von Cucchetti et al. der MELD-Score als Index der hepatischen Funktion in unserem Patientenkollektiv berechnet. Cucchetti et al. postulierten in ihrer Untersuchung von postoperativem Leberversagen nach Leberteileresektion (Patienten mit hepatozellulärem Karzinom in Zirrhose), dass ein erhöhter MELD-Score zwischen dem 3. und 5. postoperativen Tag möglicherweise die Patienten mit erhöhtem Risiko für ein postoperatives Leberversagen identifizieren kann (36).

Die Verwendung des MELD-Scores in der Abschätzung der Leberfunktion bzw. Leberschädigung auch von Patienten ohne Leberzirrhose wurde auch außerhalb des Kontexts der Lebertransplantation vorgenommen (37), dennoch wird die Validität dieses Parameters weiterhin kontrovers diskutiert. Teh et al. konnten keinen Zusammenhang zwischen dem MELD-Score und dem postoperativen Ergebnis von Patienten ohne Leberzirrhose aufzeigen (38).

In unserem Patientenkollektiv stieg der MELD-Score bereits am 1. postoperativen Tag signifikant an und erreichte hier meist den Maximalwert. Bis zum 7. postoperativen Tag fiel dieser nicht auf die präoperativen Werte zurück. Hier zeigt sich somit, dass sich die postoperative Leberfunktionseinschränkung auch unter Verwendung des MELD-Scores abbilden lässt. Im Zusammenhang mit den gemessenen Zytokinen und Chemokinen zeigte sich, dass bereits bei Patienten mit einem leicht erhöhten präoperativem MELD-Score von mehr als 7 Punkten eine höhere Serumkonzentration von IL-6 und MIG nachweisen ließ. Auffallend hierbei war, dass Patienten mit einem höherem präoperativem MELD-Score bereits erhöhte Serumspiegel von MIG zeigten. Letztlich kann diese Beobachtung nicht hinreichend geklärt werden, möglicherweise beeinflusst MIG in seiner

Rolle als antiangiogener und antiproliferativer Faktor die Umbauvorgänge in der Leber im Rahmen von chronischen Leberschäden.

In der Korrelation von IL-6 mit einem maximalen MELD-Score von mehr als 15 Punkten postoperativ lag ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang vor. Diese Ergebnisse könnten zu der Annahme führen, dass das in seiner Funktion vorgeschädigte Leberparenchym Einfluss auf das Ausmaß der inflammatorischen Antwort nach Leberteilresektion hat und das Risiko für postoperative Komplikationen zunimmt. In diesem Kontext zeigte sich in unserer Arbeit, dass Patienten mit einem MELD-Score von über 15 Punkten postoperativ signifikant mehr Komplikationen entwickelten. Aufgrund der Heterogenität unseres Patientenkollektivs allerdings, ist eine abschließende Einschätzung der Zusammenhänge zwischen inflammatorischer Antwort und dem klinischen Parameter des MELD-Scores schwierig und muss kritisch betrachtet werden. IL-10, MCP-1, IL-8 und IP-10 wiesen keinen signifikanten Zusammenhang mit dem MELD-Score auf.

4.4.2 Chirurgische Parameter

In unserer Studie wurden 12 Segmentresektionen und 14 Hemihepatektomien bzw. erweiterte Resektionen durchgeführt. Die untersuchten Zytokine und Chemokine zeigten bei IL-6 und IL-8 nur in der Analyse einzelner Zeitpunkte relevante Unterschiede zwischen Segmentresektion und Hemihepatektomie bzw. erweiterter Resektion. Hierbei scheint das Ausmaß der Resektion höhere Serumkonzentrationen an IL-6 und IL-8 nach sich zu ziehen, wobei IL-8 zu einem späteren Zeitpunkt als IL-6 signifikant ansteigt. Wie schon unter 4.3 erwähnt, wurde u. a. von Aosasa et al. die Abhängigkeit der Serumkonzentration von IL-6 mit dem Ausmaß des operativen Traumas beschrieben. In diesem Zusammenhang zeigten auch Chachkhiani et al. höhere Serumspiegel von IL-6 und IL-8 nach Resektion eines kolorektalen Karzinoms als nach Anlage eines Magenbandes (39). Eine Hemihepatektomie oder erweiterte Resektion stellt ein größeres operatives Trauma als eine Segmentresektion dar, allein die Präparation des Gewebes vor der eigentlichen Leberteilresektion ist meist aufwendiger und hinterlässt letztlich eine größere Wundfläche, welche das Ausmaß der inflammatorischen Antwort möglicherweise beeinflusst.

Diese Annahme wurde auch durch unsere Untersuchung von Operationsdauer, Präparationszeit und Resektionsgewicht unterstützt. In der Analyse der Operationsdauer von mehr als 240 Minuten zeigten sich signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-6 als bei einer Operationsdauer unter 240 Minuten in den Zeitpunkten von 10 Minuten bis 1 Stunde nach Leberteilresektion bzw. Lösen des Pringle-Manövers und Reperfusion. Simultan hierzu ließen sich signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-6 und IP-10 bei einer Präparationszeit von

über 100 Minuten vor der eigentlichen Leberteileresektion nachweisen. Die Korrelation des Resektionsgewichtes mit den untersuchten Zytokinen und Chemokinen zeigte lediglich bei MCP-1 in den ersten 10 Minuten nach Resektion bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers und Reperfusion einen signifikanten Unterschied bei einem Resektionsgewicht von über und unter 500 g. Im weiteren Verlauf ließ sich keine relevante Differenz nachweisen. Diese Ergebnisse unterstützen die Aussagen der Kollegen Aosasa und Chachkhiani, dass nicht das Lebertrauma allein, sondern auch das Ausmaß des operativen Traumas vom umliegenden Gewebe Einfluss auf die inflammatorische Antwort hat.

Das Pringle-Manöver zeigte in Korrelation mit den gemessenen Zytokinen und Chemokinen in unserer Studie keinen relevanten Effekt, lediglich in der Analyse der Pringlezeit von über 20 Minuten konnten im Zusammenhang mit MCP-1 zum Zeitpunkt 2 Stunden und IL-8 zum Zeitpunkt 1 Tag nach erfolgter Resektion bzw. Lösen des Pringle-Manövers und Reperfusion signifikant höhere Serumspiegel gemessen werden. In Studien, welche den Effekt der Ischämie und Reperfusion auf die inflammatorische Antwort untersuchten, wurden insbesondere hohe Serumkonzentrationen von IL-6 gemessen und mit postoperativen Komplikationen und erhöhter Letalität in Verbindung gebracht (40, 41, 42). Unsere Ergebnisse konnten dies nicht widerspiegeln, was mit der geringen Fallzahl in unserer Studie zusammenhängen könnte, da innerhalb unseres Kollektivs von 26 Patienten nur bei 14 Patienten das Pringle-Manöver angewandt wurde und sich keine relevanten Unterschiede in der Zytokin- und Chemokinausschüttung nachweisen ließen.

4.4.3 Laborchemische Parameter

Im Rahmen unserer Arbeit wurde, auch als Grundlage zur Bestimmung des MELD-Scores, der präoperative Bilirubin-Spiegel im Serum gemessen. Hierbei zeigte sich in Korrelation mit IL-6, IL-8 und MCP-1, dass ein bereits moderat erhöhtes präoperatives Bilirubin von mehr als 1 mg/dl einen signifikanten Einfluss auf die Zytokin- und Chemokinausschüttung nach Leberteileresektion haben kann. Dies unterstützt, analog zur Untersuchung des MELD-Scores, unsere Annahme, dass bei Patienten mit bereits präoperativ in ihrer Funktion vorgeschädigter Leber eine verstärkte inflammatorische Antwort nach Leberteileresektion erfolgen kann. In Verbindung mit einem Resektatgewicht von mehr als 500 g lagen bei Patienten mit einem präoperativen Bilirubinspiegel von mehr als 1 mg/dl signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-8 und MCP-1 vor. Furrer et al. beschrieben ein mögliches Management der präoperativen Risikoeinschätzung vor geplanter Leberteileresektion und die Möglichkeit der intraoperativen Vorgehensweisen, um die postoperative Morbidität und

Mortalität so gering wie möglich zu halten (43). Unsere Ergebnisse bestätigen die Vermutung, dass sowohl das Ausmaß des präoperativen Leberparanchymschadens als auch das sich anschließende operative Trauma auf die inflammatorische Antwort und somit auf das Outcome der Patienten Einfluss nimmt.

4.4.4 Komplikationen / stationärer Aufenthalt

Von insgesamt 26 Patienten gestaltete sich der postoperative Verlauf bei 12 Patienten ereignislos. 14 Patienten wiesen postoperativ Komplikationen auf, wovon 3 Patienten aus der Gruppe der Segmentresektionen und 11 Patienten aus der Gruppe der Hemihepatektomien und erweiterten Resektionen stammten. Die Einteilung in die Komplikationsklassen erfolgte hierbei nach Clavien (44).

In unserer Analyse der postoperativen Komplikationen konnten signifikant höhere Serumkonzentrationen von IL-6 und IL-8 gemessen werden. IL-6 gehört zu den wichtigsten Mediatoren der Akute-Phase-Antwort und ist nachweislich essentiell für die hepatische Regeneration u. a. nach operativem Trauma (9, 45, 46, 47). Eine überschießende Ausschüttung von IL-6 führt zu Komplikationen, im ausgeprägtesten Fall zu einem SIRS und möglicherweise zum Tod. Auch in unserer Studie zog eine erhöhte Serumkonzentration von IL-6 eine höhere Komplikationsrate nach sich, 2 Patienten verstarben postoperativ. Auch IL-8 gehört zu den proinflammatorisch wirksamen Chemokinen, welches für die Rekrutierung v. a. von neutrophilen Granulozyten verantwortlich ist. Diese Zellen migrieren zum Ort des Traumas, um invasive Mikroorganismen und/oder abgestorbene und dysmorphe Zellen zu entfernen. Dies birgt, bei überschüssiger Ausschüttung von IL-8, die Gefahr, dass eine zusätzliche Verletzung des bereits traumatisierten Gewebes stattfindet (26, 47). Möglicherweise in diesem Zusammenhang wiesen unsere Patienten mit erhöhten Serumkonzentrationen von IL-8 postoperative Komplikationen auf.

Ergänzend zu den postoperativen Komplikationen zeigte sich bei der Analyse der Länge des stationären Aufenthaltes, dass Patienten mit höheren Serumspiegeln von IL-8 und MCP-1 eine verzögerte Rekonvaleszenz aufwiesen und somit ein verlängerter stationärer Aufenthalt notwendig war.

4.5 Schlussfolgerung

In unserer Untersuchung konnte eine sehr frühe systemische Freisetzung von IL-6, IL-10, MCP-1, IL-8 und eine Reduktion der Serumkonzentrationen von MIG und IP-10 mit signifikanten Unterschieden im zeitlichen Verlauf unmittelbar nach Leberteileresektion dargestellt werden. In der weiterführenden Analyse zeigten sich Zusammenhänge zwischen den

Serumkonzentrationen von Zytokinen und Chemokinen und den klinischen Parametern des MELD-Scores, der Art der Resektion, dem Ausmaß des operativen Traumas, des präoperativen Bilirubins im Serum, den postoperativen Komplikationen und der Länge des stationären Aufenthaltes. Diese Ergebnisse illustrieren die Bedeutung der untersuchten Faktoren für das inflammatorische Netzwerk im Rahmen der systemischen Adaptation nach Leberteilresektion. Das Ausmaß der Zytokin- und Chemokininduktion hängt dabei teilweise mit der präoperativen Leberfunktion zusammen und spiegelt sich im Ausmaß des operativen Traumas und der postoperativen Komplikationen wider. Zur weiteren Klärung des diagnostischen Potentials der gemessenen Parameter, wobei hier IL-6, IL-8 und MCP-1 im Vordergrund stehen, ist eine Untersuchung an einem größeren Patientenkollektiv erforderlich. Hierfür kann auf der Grundlage der vorgestellten Ergebnisse, die eine frühe Dynamik der Parameter aufzeigen, die Bestimmung der jeweiligen Serumspiegel auf einige wenige Zeitpunkte reduziert werden.

5. Zusammenfassung

Die klinische Leberteilektomie wirft zum gegenwärtigen Zeitpunkt in der Einschätzung des postoperativen Verlaufs, Morbidität und Mortalität hinsichtlich möglicher Voraussagen zum Outcome von leberresezierten Patienten nach wie vor viele Fragen auf. Anhand angewandter klinischer und laborchemischer Parameter kann bisher eine orientierende Einschätzung erfolgen, zumal das Ausmaß der Leberresektion klinisch nicht sicher mit dem postoperativen Verlauf in Verbindung gebracht werden kann. Eine Möglichkeit zur frühzeitigen Erkennung von Patienten mit Komplikationen nach Leberteilektomie könnte die Identifikation von bestimmten Akute-Phase-Proteinen, zu denen u. a. Zytokine und Chemokine gehören, darstellen. Grundlage ist das Verständnis der Dynamik der akuten inflammatorischen Antwort nach Leberteilektomie und die sich anschließende Leberregeneration.

Verschiedene vorhergehende Studien weisen auf Zytokine und Chemokine als potentielle Prädiktoren für die Rekonvaleszenz von leberresezierten Patienten hin. Es wird allgemein angenommen, dass eine übermäßige Ausschüttung von verschiedenen proinflammatorischen Zytokinen und Chemokinen mit einer schlechten Prognose und einem erhöhtem Risiko für postoperative Komplikationen einhergeht. Andererseits wurde in unterschiedlichen experimentellen Modellen und bei Lebererkrankungen herausgefunden, dass einige dieser Zytokine und Chemokine essentiell für die Regeneration des Leberparenchyms sind. Obwohl bekannt ist, dass hohe Konzentrationen an bestimmten Zytokinen und Chemokinen mit einem erhöhten Risiko für postoperative Komplikationen nach Leberteilektomie einhergeht, bleibt unklar, welches Sekretionsmuster tatsächlich als Indikator für eine schlechte Prognose dient, da einige dieser Zytokine und Chemokine für eine angemessene Leberregeneration und Leberprotektion verantwortlich sind.

Vor diesem Hintergrund ist Ziel dieser Arbeit, mittels CBA (cytometric bead array) in den Seren von 26 leberresezierten Patienten, die systemische Freisetzung der Zytokine IL-6 und IL-10 und der Chemokine MCP-1, IL-8, MIG und IP-10 im zeitlichen Verlauf nach klinischer Leberteilektomie zu untersuchen und mögliche Zusammenhänge mit klinischen Parametern und dem postoperativen Verlauf zu dokumentieren. Wir konnten in unserer Untersuchung eine signifikante Änderung in den Serumkonzentrationen von IL-6, IL-10, MCP-1, IL-8, MIG und IP-10 im zeitlichen Verlauf bereits unmittelbar nach erfolgter Leberteilektomie bzw. nach Lösen des Pringle-Manövers und Reperfusion aufzeigen. In der Korrelation mit klinischen Parametern wurden relevante Serumspiegel im Zusammenhang mit einem präoperativ erhöhtem MELD-Score bei IL-6, und einem präoperativ erhöhtem Serumbilirubin bei IL-6, IL-8 und MCP-1 gemessen. Die Analyse der

Resektionsart zeigte bei IL-6 und IL-8 erhöhte Serumkonzentrationen. Hohe Serumspiegel von IL-6 und IL-8 gingen in unserem Patientenkollektiv mit postoperativen Komplikationen einher. Ergänzend hierzu waren Patienten mit höheren Serumkonzentrationen von IL-8 und MCP-1 länger in stationärer Behandlung. Diese Ergebnisse weisen auf eine frühe Dynamik der inflammatorischen Antwort nach klinischer Leberteilresektion hin. Des Weiteren ließ sich, angelehnt an die aktuelle Studienlage, die Abhängigkeit der Zytokin- und Chemokininduktion von der präoperativen Leberfunktion und dem Ausmaß des operativen Traumas darstellen. Wie bereits durch andere Arbeitsgruppen dokumentiert, birgt eine überschüssige Zytokin- und Chemokinausschüttung die Gefahr, dass Komplikationen im postoperativen Verlauf auftreten. Die kleine Fallzahl und die Heterogenität unseres Patientenkollektivs können nur Hinweise auf mögliche klinische Zusammenhänge geben. Um die hier analysierten Mediatoren der inflammatorischen Antwort innerhalb eines Monitorings zur frühzeitigen Erkennung von postoperativen Komplikationen nutzen zu können, sind weiterführende Studien der biochemischen und klinischen Zusammenhänge innerhalb größerer Fallzahlen notwendig. Dennoch konnte unsere Studie einen näheren Einblick in die Dynamik der inflammatorischen Antwort nach klinischer Leberteilresektion geben.

6. Summary

The assessment in predicting outcome of patients undergoing liver resection, such as post-surgical course, morbidity and mortality, still raises many questions up to these days. Relying on applied clinical and laboratory parameters in evaluating the post-surgical course is not sufficient in associating with the extent of liver resection. Patients undergoing liver resection could be investigated for certain acute-phase-proteins, which include cytokines and chemokines, to recognize patients with post-surgical complications on time. The key is to understand the dynamic process of acute inflammatory response following liver regeneration after liver resection. Several recent studies have pointed to cytokines and chemokines released during surgery as potential predictors of the outcome of patients undergoing liver resection. It has generally been accepted that a drastic release of various pro-inflammatory cytokines and chemokines is associated with worse prognosis and an increased risk of postoperative complications. Moreover some of these cytokines and chemokines have been found to be essential for regeneration of the liver parenchyma as shown in various experimental models and studies of liver diseases.

Although high levels of certain cytokines and chemokines are known to be associated with an increased risk of post-surgical complications after liver resection, it is still unclear what pattern of secretion is indeed an indicator of poor prognosis, considering that many of these cytokines and chemokines are also required for proper liver regeneration and hepatoprotection.

Based on this knowledge the aim of this study is to determine the systemic release of the cytokines IL-6 (Interleukine-6) and IL-10 (Interleukine-10) and of the chemokines MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1), IL-8 (Interleukine-8), MIG (Monokine induced by Interferone- γ) and IP-10 (Interferone- γ -inducible Protein-10) by using cytometric bead array (CBA) in the serum of 26 liver-resected patients collected at different time points after liver resection and to monitor possible correlations with the clinical parameters and the post-surgical course.

Our data show a significant change in the serum concentrations of IL-6, IL-10, MCP-1, IL-8, MIG and IP-10 immediately after liver resection or release of pringle maneuver and reperfusion. Relevant levels of IL-6 correspond to pre-operative MELD-score. IL-6, IL-8 and MCP-1 correlates with the pre-surgical serum level of bilirubin. The analysis of differential resection types showed increased levels of IL-6 and IL-8. High levels of IL-6 and IL-8 in our patient group went hand in hand with post-surgical complications. In addition, patients with higher serum levels of IL-8 and MCP-1 had a longer hospital stay. These results indicate an early dynamic of inflammatory response after liver resection. Furthermore, based on recent studies, cytokine and chemokine release correspond to the pre-surgical liver function and the

extent of liver resection. Documented by other work groups a high extent release of cytokines and chemokines may lead to complications in the post-surgical course. The small number and the heterogeneity of our patient group could only give hints to possible clinical relations. To be able to rely the use of the mediators of the inflammatory response investigated in this study for a precocious recognition of patients with post-surgical complications, continuative studies of biochemical and clinical relations within a greater cohort are necessary. Nevertheless, our study was able to show a closer insight into the dynamic of the inflammatory response after liver resection in human.

7. Literaturverzeichnis

1. Wolff, H.
Zur Geschichte der Leberchirurgie und Lebertransplantation
Deutsche Gesellschaft für Chirurgie
Mitteilungen 1: 62-68 (2005)
2. Higgins, G. M. und Anderson, R. M.
Experimental pathology of the liver
I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal
Arch. Pathol. 12, 186-202 (1931)
3. Fausto, N.
Lessons from genetically engineered animal models
V. Knocking out genes to study liver regeneration: present and future
AJP-GI 277: 917-921 (1999)
4. Taub, R. A.
Liver Regeneration: From myth to mechanism
Nat Rev Mol Cell Biol 5: 836-847 (2004)
5. Fausto, N.; Laird, A. D. und Webber, E. M.
Liver regeneration 2
Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration
FASEB J. 9: 1527-1536 (1995)
6. Fausto, N. und Riehle, K. J.
Regeneration medicine in the field of liver
Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications
J HBP Surgery 12: 181-189 (2005)
7. Taub, R. A.
Hepatology: A textbook of liver disease (eds Zakim, D. Z. & Boyer, W. B.)
Chapter 2, Hepatic regeneration: 31-48 (2003)
8. Fausto, N.; Campbell, J. S. Und Riehle, K. J.
Liver regeneration
Hepatology Vol. 43, No. 2, Suppl. 1: 45-53 (2006)

9. Streetz, K. L.; Luedde, T.; Manns, M. P. und Trautwein, C.
Interleukin 6 and liver regeneration
Gut 47: 309-312 (2000)
10. Strey, C. W.; Markiewski, M.; Mastellos, D.; Tudoran, R.; Spruce, L. A.; Greenbaum, L. E. und Lambris, J. D.
The proinflammatory mediators C3a and C5a are essential for liver regeneration
J Exp Med Vol. 198, No. 6: 913-923 (2003)
11. Jerin, A.; Pozar-Lukanovic, N.; Sojar, V.; Stanisavljevic, D.; Paver- Erzen, V. und Osredkar, J.
Balance of pro- and anti-inflammatory cytokines in liver surgery
Clin Chem Lab Med 41(7): 899-903 (2003)
12. Gar-Yang Chau; Chew-Wun Wu; Wing-Yiu Lui; Tai-Jay Chang; Hua-Li Kao; Li-Hwa Wu; Kuang-Liang King; Che-Chuan Loong; Chen-Yuang Hsia und Chin-Wen Chi
Serum Interleukin-10 but not Interleukin-6 is related to clinical outcome in patients with resectable hepatocellular carcinoma
Annals of Surgery Vol. 231, No. 4: 552-558 (2000)
13. Olson, T. S. und Ley, K.
Chemokines and chemokine receptors in leukocyte trafficking
Am J Physiol Reg Int Comp Physiol Vol. 283: R7-R28 (2002)
14. Baggiolini, M.
Chemokines in pathology and medicine
J of Internal Med Vol. 250: 91-104 (2001)
15. Pease, J. E.; Williams, T. J.
Chemokines and their receptors in allergic disease
J Allergy Clin Immunol Vol. 118, No. 2: 305-318 (2006)
16. Bone-Larson, C. L.; Simpson, K. J.; Colletti, L. M.; Lukacs, N. W.; Chen, S. C.; Lira, S.; Kunkel, S. L.; Hogaboam, C. M.
The role of chemokines in the immunopathology of the liver
Immunological Reviews Vol. 177: 8-20 (2000)
17. Luster, A. D.
Chemokines – Chemotactic cytokines that mediate inflammation
New Eng J Med Vol. 338, No. 7: 436-445 (1998)

18. Liu, M. T.; Armstrong, D.; Hamilton, T. A.; Lane, T. E.
Expression of MIG is important in T lymphocyte recruitment and host defence following viral infection of the central nervous system
J of Immunology Vol. 166: 1790-1795 (2001)
19. Cressman, D.E. ; Greenbaum, L.E. ; DeAngelis, R.A. ; Ciliberto, G. ; Furth, E.E. ; Poli, V. ; Taub, R.
Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice
Science 274 (5291):1379-1383 (1996)
20. Markiewsk, M.M.; Mastellos, D.; Tudoran, R.; DeAngelis, R.A.; Strey, C.W.; Franchini, S.; Wetsel, R.A.; Erdei, A.; Lambris J.D.
C3a and C3b activation products of the third component of complement (C3) are critical for normal liver recovery after toxic injury
J of Immunology 173:747-754 (2004)
21. Aldeguer, X.; Debonera, F.; Shaked, A.; Krasinkas, A.M.; Gelman, A.E.; Que, X.; Zamir, G.A.; Hiroyasu, S.; Kovalovich, K.K.; Taub, R.; Olthoff, K.M.
Interleukin-6 from intrahepatic cells of bone marrow origin is required for normal murine liver regeneration
Hepatology 35(1):40-48 (2002)
22. Selzner, N.; Selzner, M.; Odermatt, B.; Yinghua, T.; Van Rooijen, N.; Clavien, P.A.
ICAM-1 triggers liver regeneration through leukocyte recruitment and Kupffer cell-dependent release of TNF α /IL-6 in mice
Gastroenterology 124:692-700 (2003)
23. Morita, Y.; Yoshidome, H.; Kimura, F.; Shimizu, H.; Ohtsuka, M.; Takeuchi, D.; Mitsuhashi, N.; Iida, A.; Miyazaki, M.
Excessive inflammation but decreased immunological response renders liver susceptible to infection in bile duct ligated mice
J of Surgical Research, Article in press (2007)
24. Tilg, H.; Kaser, A.; Moschen A.R.
How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases
Liver International 26:1029-1039 (2006)

25. Bliss, S.K.; Bliss, S.P.; Beiting, D.P.; Alcaraz, A.; Appleton, J.A.
IL-10 regulates movement of intestinally derived CD4+ T cells to the liver
J of Immunology 178:7974-7983 (2007)
26. Jaeschke, H.
Mechanisms of liver injury
II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions
Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 290:G1083-G1088 (2006)
27. Leifeld, L.; Dumoulin, F-L.; Purr, I.; Janberg, K.; Trautwein, C.; Wolff, M.; Manns, P.M.; Sauerbruch, T.; Spengler, U.
Early up-regulation of chemokine expression in fulminant hepatic failure
J of Pathology 199:335-344 (2003)
28. Koniaris, L.G.; Zimmers-Koniaris, T.; Hsiao, E.C.; Chavin, K.; Sitzmann, J.V.; Farber, J.M.
Cytokine-responsive Gene-2/IFN-Inducible Protein-10 expression in multiple models of liver and bile duct injury suggests a role in tissue regeneration
J of Immunology 167:399-406 (2001)
29. Gasperini, S.; Marchi, M.; Calzetti, F.; Laudanna, C.; Vicentini, L.; Olsen, H.; Murphy, M.; Liao, F.; Farber, J.; Casatella, M.A.
Gene expression and production of the Monokine Induced by IFN γ (MIG), IFN-Inducible T cell α Chemoattractant (I-TAC), and IFN- γ -Inducible Protein-10 (IP10) chemokines by human neutrophils
J of Immunology 162:4928-4937 (1999)
30. Morgan, E.; Varro, R.; Sepulveda, H.; Ember, J.A.; Apgar, J.; Wilson, J.; Lowe, L.; Chen, R.; Shivraj, L.; Agadir, A.; Campos, R.; Ernst, D.; Gaur, A.
Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology
Clinical Immunology 110:252-266 (2004)

31. Shimauchi, T.; Imai, S.; Hino, R.; Tokura, Y.
Production of thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine by CCR4+ adult T-Cell Leukemia cells
Clinical Cancer Research Vol. 11:2427-2435 (2005)
32. Ng, P.C.; Li, K.; Chui, K.M.; Leung, T.F.; Wong, R.P.O.; Chu, W.C.W.; Wong, E.; Fok, T.F.
IP-10 is an early diagnostic marker for identification of late-onset bacterial infection in preterm infants
Pediatric Research Vol. 61:93-98 (2007)
33. Kimura, F.; Shimizu, H.; Yoshidome, H.; Ohtsuka, M.; Kato, A.; Yoshitomi, H.; Nozawa, S.; Furukawa, K.; Mitsuhashi, N.; Sawada, S.; Takeuchi, D.; Ambiru, S.; Miyazaki, M.
Circulating cytokines, chemokines and stress hormones are increased in patients with organ dysfunction following liver resection
Journal of Surgical Research 133:102-112 (2006)
34. Aosasa, S.; Ono, S.; Mochizuki, H.; Tsujimoto, H.; Osada, S.; Takayama, E.; Seki, S.; Hiraide, H.
Activation of monocytes and endothelial cells depends on the severity of surgical stress
World J Surg 24: 10-16 (2000)
35. Suyama, T.; Furuya, M.; Nishiyama, M.; Kasuya, Y.; Kimura, S.; Ichikawa, T.; Ueda, T.; Nikaido, T.; Ito, H.; Ishikura, H.
Up-regulation of the interferon γ (IFN- γ)-inducible chemokines IFN-inducible T-cell α chemoattractant and monokine induced by IFN- γ and of their receptor CXCR3 in human renal cell carcinoma
Cancer 103:258-267 (2005)
36. Cucchetti, A.; Ercolani, G.; Cescon, M.; Ravaioli, M.; Zanello, M.; Del Gaudio, M.; Lauro, A.; Vivarelli, M.; Grazi, G.L.; Pinna, A.D.
Recovery from liver failure after hepatectomy for hepatocellular carcinoma in cirrhosis: Meaning of the model for end-stage liver disease
J Am Coll Surg 203:670-676 (2006)

37. Kamath, P. S.; Kim, W. R.
The Model of End-Stage Liver Disease (MELD)
Hepatology Vol. 45, No. 3: 797-805 (2007)
38. Teh, S. H.; Sheppard, B. C.; Schwartz, J.; Orloff, S. L.
Model of End-stage Liver Disease score fails to predict perioperative outcome after hepatic resection for hepatocellular carcinoma in patients without cirrhosis
Am J of Surg Vol. 195, No. 5:697-701 (2008)
39. Chachkhiani, I.; Gürlich, R.; Maruna, P.; Frasko, R.; Lindner, J.
The postoperative stress response and its reflection in cytokine network and leptin plasma levels
Physiol Res 54:279-285 (2005)
40. Kim, Y.I., Chung, H.J.; Song, K.E.; Hwang, Y.J.; Lee, J.W.; Lee, Y.J., Chun, B.Y.
Evaluation of a protease inhibitor in the prevention of ischemia and reperfusion injury in hepatectomy under intermittent pringle maneuver
Am J Surg 191:72-76 (2006)
41. Kita, Y.; Sakon, M.; Yoshida, T.; Gotoh, M. ; Monden, M.
Pringle maneuver during hepatic resection induces inflammatory cytokines
Dig Dis Sci 41:2459-2460 (1996)
42. Kim, Y.I.; Song, K.E.; Ryeon H.K.; Hwang, Y.J.; Yun, Y.K.; Lee, J.W.; Chun, .Y.
Enhanced inflammatory cytokine production at ischemia/reperfusion in human liver resection
Hepatogastroenterology 49:1077-1082 (2002)
43. Furrer, K.; DeOliveira, M.L.; Graf, R.; Clavien, P.A.
Improving outcome in patients undergoing liver surgery
Liver Int. 27(1):26-39 (2007)
44. Clavien, P.A.; Sanabria, J.R.; Strasberg S. M.;
Proposed classification of complications of surgery with examples in utility in cholecystectomy
Surgery 111(5):518-526 (1992)

45. Blindenbacher, A.; Wang, X.; Langer, I.; Savino, R.; Terracciano, L.; Heim, M.H.
Interleukin 6 is important for survival after partial hepatectomy in mice
Hepatology 38:674-682 (2003)
46. Mokart, D.; Merlin, M.; Sannini, A.; Brun, J.P.; Delpero, J.R.; Houvenaeghel, G.; Moutardier, V.; Blache, J.L.
Procalcitonin, interleukin 6 an systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery
Br J Anaesth 94:767-773 (2005)
47. Gabay, C., Kushner, I.
Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation
New Eng J Med Vol. 340, No. 6, 448-454 (1999)

8. Anhang

8.1 Danksagung

„Auf Schienen, die man nicht gelegt hat, kann man nicht fahren.“
(Stan M. Davis)

Angelehnt an dieses Zitat möchte ich mich in erster Linie bei meinem Betreuer Dr. med. Christoph W. Strey für die Überlassung des Themas, die unerschöpflichen „Brainstormings“ und für dessen und für das Vertrauen von Prof. Dr. med. W. O. Bechstein als meinen Doktorvater bedanken. Als Doktorand überfallen einen häufig Zweifel, ob man der gestellten Aufgabe gewachsen ist und nicht selten stellen sich auf viele Fragen neue Fragen ein. In diesem Zusammenhang spreche ich unserer Forschungsassistentin Elsie Oppermann ein großes Kompliment und meinen herzlichen Dank aus, die zum einen mit ihrer großen experimentellen Erfahrung, und zum anderen, mit ihrer Geduld in Anleitung und Weitergabe dessen eine mehr als große Hilfe war.

Dank gilt auch meinen ärztlichen Kollegen auf Station, welche die Patienten über diese Studie aufgeklärt und deren Einverständniserklärung zur Realisierung dieses Projektes eingeholt haben.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen studentischen Kolleginnen und Kollegen Britta Siegmund, Johannes Gestrich, Maria Park und Sybille Beyerlein für den kompromisslosen Zusammenhalt und die kollegiale Hilfe in der Betreuung der Patienten und für das Zusammentragen der Daten bedanken.

Zu guter Letzt möchte ich nicht die Menschen in meinem privaten Umfeld vergessen, die mit großem Verständnis und Geduld mit mir (und wegen mir....) gelitten und mir den Rücken gestärkt haben. Als allererstes möchte ich meinem Franz Danke sagen, für das mehr oder weniger geduldige Ertragen meiner Launen und für das unermüdliche Vorantreiben trotz geringer gemeinsamer Freizeit. Und letztendlich meinen Eltern ein großes Dankeschön für die finanzielle und moralische Unterstützung nicht nur im Rahmen dieser Doktorarbeit – sie haben Großartiges geleistet.

8.2 Veröffentlichungen

C. W. Strey, J. Gestrich, T. Beckhaus, C. Mönch, R. M. Marquez-Pinilla, E. Oppermann, W. O. Bechstein:

Die Modifikation des Glukosestoffwechsels und der Expression peroxisomaler Enzyme kennzeichnet die zellulären Anpassungsmechanismen humaner Hepatozyten nach Hypoxie und Reoxigenierung in Primärkultur.

Transplantationsmedizin Suppl II 2007: S.106 [A]

J. Gestrich, C. W. Strey, R. M. Marquez-Pinilla, T. Beckhaus, E. Oppermann, W. O. Bechstein:

Analyse der zellulären Anpassungsmechanismen humaner Hepatozyten nach Hypoxie und Reoxigenierung in Primärkultur durch 2-dimensionale Gelelektrophorese und Massenspektrometrie.

Transplantationsmedizin Suppl I 2007: S. 15 [A]

C. W. Strey, B. Siegmund, R. M. Marquez-Pinilla, E. Oppermann, W. O. Bechstein:

C3a, C4a and C5a serum levels change after liver resection in correlation with a systemic chemokine response.

Molecular Immunology 44 2007:147-266 [A]

8.3 Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name	Marquez-Pinilla
Vorname	Rosa-Maria
Geburtsdatum	15.01.1976
Geburtsort	Alzenau i. Ufr.
Familienstand	ledig
Name des Vaters	Marquez-Cabello, Miguel
Beruf	Rentner, ehemals Maurer
Name der Mutter	Pinilla-Catalina, Josefina
Beruf	Rentnerin, ehemals Schneiderin

Schulischer Werdegang

1982-86	Grundschule Karlstein
1986-88	Volksschule Karlstein
1988-92	Edith-Stein-Schule, staatl. Realschule Alzenau Mittlere Reife
1992-95	Otto-Hahn-Schule, Gesamtschule mit gymn. Oberstufe Hanau Hochschulreife

Universitärer Werdegang

1998	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main
19.03.2002	Ärztliche Vorprüfung
28.08.2003	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
30.03.2006	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
24.04.2006-	
25.03.2007	Praktisches Jahr am Universitätsklinikum Frankfurt am Main
13.06.2007	3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
15.06.2007	Erhalt der Approbation

Berufliche Zusatzausbildungen

1995-96	Freiwilliges Soziales Jahr am Klinikum Aschaffenburg
1996-98	Staatl. geprüfte Trainerin für Sportakrobatik Sportschule Ruit

Frankfurt am Main, 29.10.2008

8.4 Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

„Die Analyse der Chemokin- und Zytokinsekretion als Ausdruck der systemischen Inflammation nach klinischer Leberteilresektion“

in der Klinik für Allgemein- und Gefäßchirurgie unter Betreuung und Anleitung von Dr. med. Christoph Strey mit Unterstützung durch Prof. Dr. med. W. O. Bechstein ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher noch nicht veröffentlicht.

.....
Rosa-Maria Marquez-Pinilla
Frankfurt, 29.10.2008