

Silvana Tyufekchieva

Dr. med.

## **Individual in vitro proliferative capacity of primary human hepatocytes and its correlation to clinical outcome in patients undergoing major liver resection**

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktormutter: Prof. Dr. med. Katrin Hoffmann

Leberchirurgie ist ein hoch komplexer Fachbereich der heutigen Medizin, welcher in den letzten Jahrzehnten eine beeindruckende Entwicklung durchlaufen hat. Als zentrale Therapiesäule diverser Lebertumore, stellt sie bis heute den oftmals einzigen kurativen Ansatz in der Versorgung von Patienten dar. Major-Leberresektionen wie die Hemihepatektomie oder erweiterte Hemihepatektomie sind im Allgemeinen nur möglich dank der bemerkenswerten Fähigkeit dieses Organs, innerhalb weniger Wochen nach der Operation auf ihr ursprüngliches Volumen anzuwachsen. Revolutioniert wurde das Verständnis für Leberregeneration nach operativer Volumenreduktion durch die Erforschung und Entdeckung der involvierten Signalwege, welche drei definierte Regenerationsphasen markieren: Initialisierung, Proliferation und Terminierung. Das meiste Wissen über das Thema Leberregeneration stammt aus Tiermodellen, wobei das Rattenmodell für die partielle Hepatektomie (partial hepatectomy) am besten erforscht wurde. Major-Leberresektionen sind stark risikobehaftete Operationen mit hoher therapieassoziiertes Mortalität (circa 10%) und Morbidität in deutschen Krankenhäusern. Eine der gefürchtetsten Komplikationen stellt das Leberversagen nach Resektion (Post-hepatectomy Liver Failure) dar. Die Prädiktion des individuellen Outcomes nach Major-Leberresektion bleibt eine Herausforderung im klinischen Alltag. Daher bedarf es zur Therapieverbesserung weitere Forschung und personalisierte Ansätze.

Das Ziel der hier beschriebenen klinisch-experimentellen Pilotstudie war die Untersuchung einer potentiellen Korrelation zwischen der individuellen in vitro Leberzell-Proliferationskapazität mit dem klinischen Outcome und der Zytokindynamik im Blut bei Patienten, die eine Major-Resektion durchliefen. Ein weiteres Ziel war die Analyse des Proteoms von Lebergewebe und die Untersuchung von Unterschieden in der Proteinexpression in Zusammenhang mit dem klinischen Outcome. Fünfzehn Patienten, welche eine Hemihepatektomie oder erweiterte Hemihepatektomie am Universitätsklinikum Heidelberg durchliefen, wurden in die Studie eingeschlossen und analysiert. Lebergewebe wurde intraoperativ gesammelt woraufhin direkt im Anschluss die primären Hepatozyten aus dem Resektat isoliert wurden. Die so gewonnenen Zellen wurden über 48 Stunden mit Hepatocyte Growth Factor stimuliert und deren Proliferation wurde anhand der Bestimmung des Desoxyribonukleinsäure-Gehalts gemessen. Blutproben aus den Patienten wurden einen Tag vor sowie einen, drei und sieben Tage nach der Leberresektion entnommen, um daraus die Zytokindynamik mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay zu messen. Zudem wurde aus den intraoperativ gewonnen Lebergeweben mittels Massenspektrometrie das Proteomprofil analysiert. Die klinischen Daten der individuellen postoperativen Verläufe wurden aus den Arztbriefen der Klinik entnommen.

Im Fokus der statistischen Analyse stand die Beurteilung, ob man Unterschiede der klinischen postoperativen Verläufe und der Zytokindynamiken zwischen Patienten mit niedriger und mit hoher in vitro Leberzellproliferation beobachten kann. Die Ergebnisse zeigten signifikante Unterschiede bezogen auf die Gesamtkrankenhausaufenthaltsdauer, die Aufenthaltsdauer auf Intensiv- und/oder Intermediate Care Station, postoperative Komplikationen gemessen nach der Clavien-Dindo Klassifikation und dem Comprehensive Complication Index sowie im Grad der Post-hepatectomy Liver Failure Klassifikation. Dies deutet darauf hin, dass ein prolongierter postoperativer Verlauf mit erhöhter Komplikationsrate mit einer niedrigeren in vitro Proliferationskapazität der Patientenhepatozyten einhergehen könnte. Dieses Erkenntnis ist bemerkenswert, da sie in der vorhandenen Literatur bisher nicht beschrieben wurde. Desweiteren zeigten sich bei Patienten mit niedriger in vitro Proliferation höhere Gesamtspiegel der Interleukine-6 und 8 innerhalb des perioperativen Zeitraums gemessen an der Area Under the Curve. Dies ist eine Entdeckung von Interesse, da Korrelationen dieser Zytokinspiegel mit Komplikationen bei Lebererkrankungen zwar erforscht wurden, bisher jedoch nur wenig konklusive Ergebnisse vorliegen. Die Analyse des Leberproteoms der Patienten ergab beachtliche Entdeckungen. Im Vergleich der Expression von Proteinen zwischen Patientengruppen mit und ohne Post-hepatectomy Liver Failure gab es quantitative Unterschiede bei mehr als 60 Proteinen, wobei zehn dieser Proteine leberspezifisch sind. Weitere Untersuchungen der exakten Bedeutung dieser Proteine erscheint nötig um deren Einfluss auf Leberversagen nach Hemihepatektomie besser zu verstehen. Die größte Einschränkung der Interpretation der Ergebnisse dieser Studie liegt in der relativ kleinen Patientenkohorte.

Insgesamt zeigte diese Studie interessante Verbindungen zwischen der in vitro Proliferation von primären humanen Hepatozyten und dem klinischen Outcome und der Zytokindynamik, sowie Unterschiede im Proteom zwischen Patienten mit und ohne Entwicklung von Post-hepatectomy Liver Failure. Weitere Forschung mit Fokus auf diese Punkte, mit erweiterten Zielen und mit einem höheren Volumen an Patienten könnte für die Bestimmung von Risiken und Prädiktionsfaktoren für ein schlechtes klinisches Outcome nach Leberresektion in einer personalisierten Art und Weise von potentiellem Nutzen sein.