



**UvA-DARE (Digital Academic Repository)**

**Enhancement of liver regeneration and liver surgery**

Olthof, P.B.

[Link to publication](#)

*Citation for published version (APA):*

Olthof, P. B. (2017). Enhancement of liver regeneration and liver surgery

**General rights**

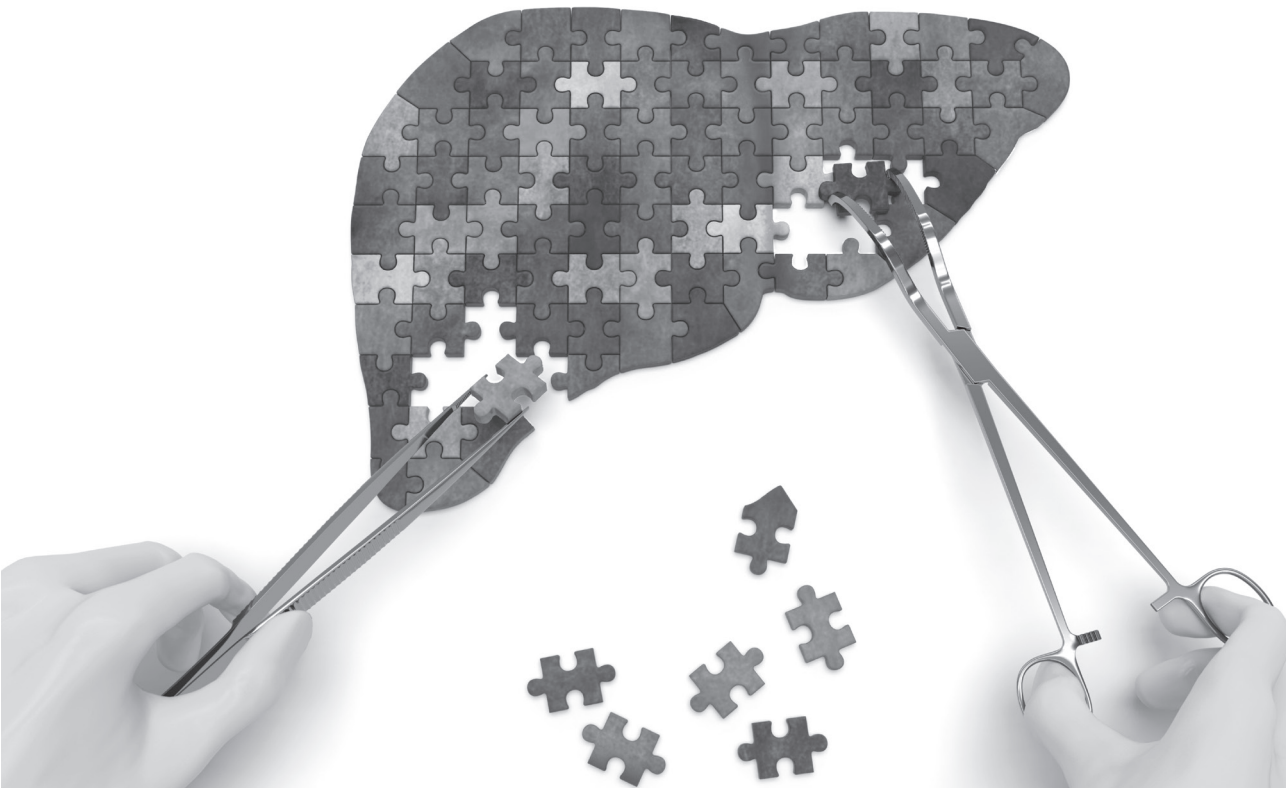
It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <http://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

# SUMMARY

**Summary and future perspectives**



## SUMMARY

Liver regeneration allows surgical resection of up to 75% of the liver and enables curative treatment for patients with primary or secondary hepatic malignancies. Extended liver resection is however, associated with substantial risks, reflected by considerable morbidity and mortality rates. Optimization of several aspects in liver resection could improve the outcomes of patients who require extended liver surgery. Reduction of intra-operative ischemia could improve liver function and preserve the regenerative capacity of the remnant liver. In addition, preoperative optimization using portal vein embolization to increase remnant liver volume and function potentially reduces morbidity and mortality, but selection of patients for embolization remains difficult. Modulation of the bile acid farnesoid X Receptor (FXR) could be a promising alternative to stimulate liver regeneration. Also, new surgical techniques such as associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS) have emerged to overcome some of these limitations, however, have not been embraced without controversy by the surgical community. This thesis aimed to explore the avenues to enhance liver regeneration and liver surgery by using both experimental and clinical approaches.

### **Hepatic ischemia and reperfusion injury**

During liver resection, excessive blood loss can be prevented by temporary clamping of hepatic blood supply. Although effective in reducing blood loss and preventing adverse outcomes, it does induce hepatic ischemia and reperfusion (I/R) injury. Hepatic I/R induces a sterile inflammatory response that compromises postoperative liver function and has extensively been studied in mouse models. In **chapter 1** the validity of many of these mouse models is questioned. It was shown that deterioration of liver function is determined by an ischemia time-dependent damage threshold. In patients, damage incurred by hepatic I/R does not reach the critical threshold, as demonstrated by limited hepatic necrosis and preserved liver function even after substantial ischemia. In contrast, most mouse models use 60 to 90 minutes of hepatic ischemia which by far exceeds the threshold in mice and severely impairs liver function with over 75% of necrosis. In addition, it was shown that the inflammatory response is different between mild and severe injury models. Therefore, results derived from many mouse models of hepatic I/R injury should be interpreted with caution and clinical validation of results is essential to establish effective treatment strategies.

**Chapter 2** demonstrates a discrepancy between severe injury models of hepatic I/R in mice, compared to mild injury models and the clinical response in patients. Interleukin 23 and 17A were thought to be implicated in hepatic ischemia and reperfusion in mice following

production of interleukin 1 $\beta$ . However, this study showed that interleukin 1 $\beta$  is only present in severe, but not mild injury models. Furthermore, interleukin 23 and 17A could not be detected in any mouse model of hepatic ischemia and reperfusion. Their absence was validated in a controlled patient cohort of patients who underwent liver resection with or without intra-operative application of vascular inflow occlusion. Interleukin 23 and 17A could not be detected in these patients and are therefore likely not involved in hepatic ischemia and reperfusion injury.

Hypothermia is a commonly applied strategy to reduce hepatic ischemia and reperfusion injury in the setting of graft preservation for liver transplantation as well as in very complex liver resections. In **chapter 3** the protective mechanisms of hypothermia were reviewed, which includes a reduction in cellular metabolism to reduce the formation of reactive oxygen species. In addition, hypothermia modulates the immune response and preserves hepatocellular transporter expression and function. These effects could have a protective effect on liver function when applied in liver resectional strategies as studied in **chapter 4**. In a randomized trial, in situ hypothermic perfusion using retrograde drainage during major liver resection improved postoperative liver regeneration, although postoperative transaminase levels, clinical outcomes, and inflammatory cytokines were not influenced by hypothermic perfusion. The improved liver regeneration might indicate a potential benefit of in situ hypothermic perfusion for patients with compromised, marginal, future remnant livers. However, the procedure does extend operative time, which might have a negative influence on outcomes and it remains to be established whether this is outbalanced by the favorable effects on the hepatic ischemia.

In **chapter 5** the relevance of transaminase levels for postoperative morbidity and mortality was examined after liver resection. Interestingly, operative time rather than vascular inflow occlusion time dictated postoperative transaminase levels. Peak transaminase levels were independently associated with postoperative morbidity and mortality. Therefore these markers provide an early indication of adverse outcomes, especially following major liver resection and hepatic resection for perihilar cholangiocarcinoma.

### **Portal vein embolization**

Embolization of the portal vein induces compensatory growth of the non-embolized liver lobes before major liver resection, thereby allowing safe resection of a larger amount of liver tissue. However, in case of tumor progression after portal vein embolization (PVE) leading to unresectable disease, the permanently deportalized liver lobes are prone to complications. Temporary portal vein embolization might therefore have several advantages and could even find application in living liver donation when the intended liver graft is small



for size. Reversible embolization in the latter setting might increase the liver graft without jeopardizing the donor. In **chapter 6** reversible embolization was established in rabbits using fibrin glue and aprotinin with adequate hypertrophy rates and an 80% reversion rate in 42 days. Following absorption of the embolization material, liver histology demonstrated minor liver damage suggesting that the previously embolized liver lobes are viable upon absorption of the fibrin glue mixture. These findings warrant further studies and indicate that temporary PVE might be valuable in living liver donation.

**Chapter 7** confirms the clinical relevance of the rabbit model of portal vein embolization by highlighting many similarities in the liver volume and function increase following embolization in rabbits compared with humans. In contrast to frequently used rat models, PVE in rabbits does not induce necrosis in the embolized lobes. Necrosis is also unlikely to occur in patients and since necrosis has substantial systemic effects the rabbit model is most likely of more translational compared to rat models.

Selection of patients for PVE remains challenging, especially for patients with perihilar cholangiocarcinoma (PHC) who often suffer from obstructive cholestasis that requires biliary drainage posing a risk of inducing cholangitis. In addition to remnant liver volume, cholestasis and cholangitis are major risk factors for postoperative liver failure. In **chapter 8** a risk score for liver failure after liver resection was developed for patients with PHC. Cholangitis, jaundice at presentation and preoperative bilirubin levels dictate the risks of contracting liver failure more than liver volume. Therefore selection of patients for PVE using liver volume only might be insufficient and the proposed risk score could help to select patients at risk for liver failure.

Remnant liver function is ultimately the single most important determinant of liver failure. Hepatobiliary scintigraphy (HBS) to quantify  $^{99m}\text{Tc}$ -mebrofenin uptake serves as a test for liver function. **Chapter 9** demonstrated that measurement of liver function using HBS can predict the risk of liver failure after resection in patients with PHC. Compared to liver volume, the negative predictive value of sufficient remnant liver function is higher and therefore, assessment of liver function using HBS is most likely more valuable to select patients with PHC for PVE than remnant liver volume.

Overall morbidity and mortality following liver resection for PHC are substantial and liver failure accounts for only part of these adverse outcomes. Therefore preoperative risk assessment is essential for selection and optimization of patients for resection and in the context of shared decision making, necessary to better inform patients of the risks of treatment. In **chapter 10**, the e-PASS and me-PASS risk assessment scores were externally

validated in a cohort of patients who had undergone liver resection for PHC. Both e-PASS models accurately identified patients at high risk of postoperative in-hospital mortality after resection for PHC. The me-PASS model can be used before surgery with preoperative variables and therefore is more suitable for risk assessment and shared decision making.

### **Bile acids and liver regeneration**

In **chapter 11**, it was shown that the enterohepatic circulation of bile acids is essential to allow for liver regeneration following major liver resection for perihilar cholangiocarcinoma (PHC) in order to prevent liver failure. Preoperatively placed percutaneous trans-hepatic biliary drainage catheters are often used following resection across the hepaticojejunostomy to protect the anastomosis. In the presence of an external, intraluminal bile drain following major liver resection, liver failure was over 5-fold more prevalent. Postoperative external biliary drainage should therefore not be recommended following major liver resection for PHC, or bile replacement therapy should be considered.

Bile acids mediate liver regeneration through the nuclear bile acid farnesoid X-receptor for which potent agonists such as obeticholic acid have been developed. In **chapter 12** we demonstrated that obeticholic acid accelerated liver regeneration after PVE, measured by an increase in liver volume, function, and Ki67 positive proliferating hepatocytes, without any detected increase in hepatocellular injury. The results suggest that obeticholic acid potentially enhances the efficacy of portal vein embolization and reduces the interval to surgery. In addition, when applicable to liver resection, obeticholic acid has the potential to prevent postoperative liver failure.

Especially PHC patients are vulnerable to liver failure due to the prevalent obstructive cholestasis. Therefore obeticholic acid was tested in a rat model of cholestasis in combination with partial hepatectomy in **chapter 13**. Obeticholic acid induced liver growth in the presence of cholestasis alone, but did, however, also increase cholestatic injury due to increased export of bile acids into the obstructed bile ducts by upregulation of bile salt export pump expression. Following hepatectomy, obeticholic acid did not enhance liver regeneration, however, the livers in the obeticholic acid treated animals were larger at baseline which might indicate a limited need for liver regeneration. Therefore it is hard to draw definitive conclusions. Nevertheless, the study demonstrated the potential benefit of farnesoid X-receptor agonists in patients with resectable PHC.

**Chapter 14** describes a model of obstructive cholestasis in hamsters, which shows many similarities to the human cholestatic response. The hamster model might provide valuable insight into obstructive cholestasis, especially since hamsters express fibroblast growth



factor 19 (FGF19) in response to cholestasis just like humans, which is not present in mice and rats. Since FGF19 is thought to be an anti-cholestatic 'drug', the model holds the potential to investigate the effects of FGF19 in conditions of cholestasis.

### **Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS)**

ALPPS allows extended liver resections by inducing rapid and potent liver hypertrophy. In **chapter 15**, the limitations that accompanied the introduction of this new technique were highlighted. First, the relevance of the rapid increase in liver volumes measured during the first stage of ALPPS is questioned since liver failure after ALPPS is rather common and morbidity and mortality rates are high despite the induced rapid increase in liver volume. In **chapter 16**, it was demonstrated that liver volume increase in a rabbit model most likely overestimates the increase in liver volume observed when parenchymal transection was added to PVE. Although addition of parenchymal transection more than doubled the liver volume increase following PVE, it had no effect on liver functional increase at all.

The results from the rabbit model were confirmed in **chapter 17** using clinical data of patients who had undergone ALPPS. Following ALPPS, the liver volume increase is more pronounced compared to the increase in liver function. This is in contrast to PVE, in which the liver function increase was previously shown to precede the increase of liver volume. These results suggest that the liver volume increase induced by ALPPS represents non-functional immature hepatocytes and warrants systematic implementation of quantitative assessment of liver function after the first stage in ALPPS to improve clinical outcomes and prevent liver failure.

The oncological value of ALPPS for advanced colorectal liver metastases (CRLM) was analyzed in **chapter 18**. Overall survival following ALPPS in patients with advanced colorectal liver metastases was not superior to matched patients that received palliative systemic therapy. Also the disease-free survival following ALPPS is limited when compared to other surgical strategies. The short interval between the stages of ALPPS might be too short to detect tumor progression, in contrast to PVE in which in the weeks between PVE and resection, disease progression is regularly shown. In ALPPS the detection of progression has most likely shifted to the postoperative period and it remains to be established whether this procedure has a place in the treatment of advanced CRLM, considering the improved systemic treatment regimens available today. Patient selection rather than increasing resectability might be key to improve outcomes for patients with CRLM, and most likely not all patients will benefit from extended surgical resection.

In **chapter 19** the outcomes of ALPPS for PHC were compared to matched patients with similar remnant liver volume who underwent standard resection for PHC. Following ALPPS mortality was 48% compared to 24% in the matched patients who underwent standard resection with similar FLR volumes. The 48% mortality and 6 month overall survival are unacceptable and ALPPS is therefore currently not recommended for PHC.

## FUTURE PERSPECTIVES

Numerous studies have focused on hepatic I/R in the context of liver surgery using both experimental and clinical approaches. This thesis confirms a recent report that questioned the relevance of many experimental models of hepatic I/R in mice.<sup>1</sup> The bulk of literature uses severe injury models and obtained results that are most likely not translatable to the clinical characteristics of hepatic I/R. Consequently, there are no treatment strategies to reduce hepatic I/R that have currently found clinical application, despite the fact that increasing durations of ischemia are now implemented.<sup>2</sup> No validated parameter is available to measure hepatic I/R injury in patients and perhaps I/R is only a significant problem in patients with marginal remnant livers in terms of size and hepatic parenchymal disease. These patients will possibly benefit from liver function preserving strategies such as in situ hypothermic perfusion with retrograde drainage.

Reversible PVE with an adequate hypertrophic response without inducing permanent injury to the previously embolized liver might hold great potential for patients found to be unresectable upon exploration as well as in the setting of living donor liver donation. In this thesis, a promising first step is demonstrated with minor histologic changes in the treated liver lobe 42 days after reversible embolization. Further studies should examine the long-term effects of temporary PVE on liver function. Besides the search for the ideal embolization material, the ideal criteria for selection of patients for PVE remain to be established. HBS to preoperatively assess liver function is gaining interest worldwide.<sup>3</sup> This thesis shows that HBS has better predictive value for liver failure compared to liver volume following major liver resection for PHC. However, future studies should confirm the benefits of HBS in patients with PHC as well as patients with other types of tumor. In addition the variables that determine mebrotfenin uptake in HBS should be examined.

The implication of bile acids in liver regeneration through FXR and FGF19 might hold great potential in many fields including liver regeneration before and after liver resection, as well as obstructive cholestasis and biliary drainage. Recently, Pandora's box has opened and many agents besides obeticholic acid have been developed that modulate bile acid homeostasis,





cholestasis, and liver regeneration.<sup>4,5</sup> Biliary drainage poses the risk of inducing cholangitis and these risks might not outweigh the benefits in patients with large future remnant livers.<sup>6,7</sup> This thesis shows modulation of FXR with obeticholic acid might have potential, however future studies are required to examine the full potential in relation with biliary drainage. Perhaps, modulation of bile homeostasis with FGF19 analogues might assist or even substitute biliary drainage in the future.<sup>8</sup> This thesis paves the way for application of FXR agonists to enhance liver regeneration. Future studies should examine whether the enhanced regeneration by obeticholic acid shown after PVE can be extrapolated to regeneration after hepatectomy. However, caution is warranted with clinical application, since the intended patient population suffers from malignant tumors. Tumors such as hepatocellular carcinoma and perihilar cholangiocarcinoma express FXR and the effects of supra-physiologic FXR stimulation on these tumors is uncertain.<sup>9</sup> Several studies suggest a suppressive effect of FXR stimulation on tumor progression,<sup>10,11</sup> however, the effects of the elevated FGF19 levels induced by obeticholic acid treatment are less certain.<sup>12</sup> FGF19 and its receptor FGFR4 are linked to tumor progression and adverse outcomes in hepatocellular carcinoma.<sup>13,14</sup> Therefore elaborate studies in relevant tumor models are essential before considering clinical application of FXR agonists for enhancement of liver regeneration or as adjunct to biliary drainage. The development of FGF19 analogues without tumorigenic effects might solve these oncogenic risks.<sup>15</sup>

ALPPS has redefined resectability in liver surgery due to the induction of rapid and potent liver hypertrophy.<sup>16</sup> However, the introduction of the technique has shown several limitations. Firstly, morbidity and mortality rates are high, especially for tumors other than colorectal liver metastases.<sup>17</sup> Therefore it can be questioned whether ALPPS is a viable option when other more defined and controlled resection techniques are available. Perhaps ALPPS should be reserved for patients with no other surgical alternative. Monosegment ALPPS in which only one liver segment remains as remnant liver has been described.<sup>18</sup> The technique theoretically provides curative potential to patients previously deemed unresectable, however, this thesis questions whether these patients with advanced CRLM will actually benefit from ALPPS. For these patients systemic therapy might be a better alternative. In contrast, patients with CRLM who have gained insufficient liver hypertrophy after PVE, additional ALPPS likely is the best treatment option.<sup>19</sup> ALPPS can produce sufficient liver hypertrophy for resection even when previous PVE has not resulted in any hypertrophy. This extension of resectability by ALPPS is promising, however, the majority of PVE cases that do not undergo resection is due to tumor progression and therefore the indication of insufficient hypertrophy is infrequent.<sup>20</sup> This thesis also showed that liver volume increase after ALPPS is not met by a proportional increase in liver function, thereby limiting its relevance since the rapid hypertrophy was considered the main benefit of ALPPS over other

surgical strategies. High-quality evidence on the efficacy and oncological outcomes of ALPPS is lacking and the majority of literature contains heterogeneous mono-center case series. Notwithstanding that ALPPS was a serendipitous surgical finding, a regulated step-by-step clinical introduction of new surgical techniques preceded by preclinical studies might result in safer, high-quality, evidence-based surgery.

Overall, the borders in liver surgery are pushed and the technical limitations have been reduced. In addition, the pre-, intra-, and postoperative management have continued to improve. Several aspects addressed in this thesis may find clinical application in the future. In order to sustain the advances in liver surgery, results from experimental models should be critically reviewed in terms of clinical translation. Subsequent systematic clinical introduction is essential to retain evidence based practice and relevant clinical outcomes should be selected to provide insight into the benefits of these advances for the patient.

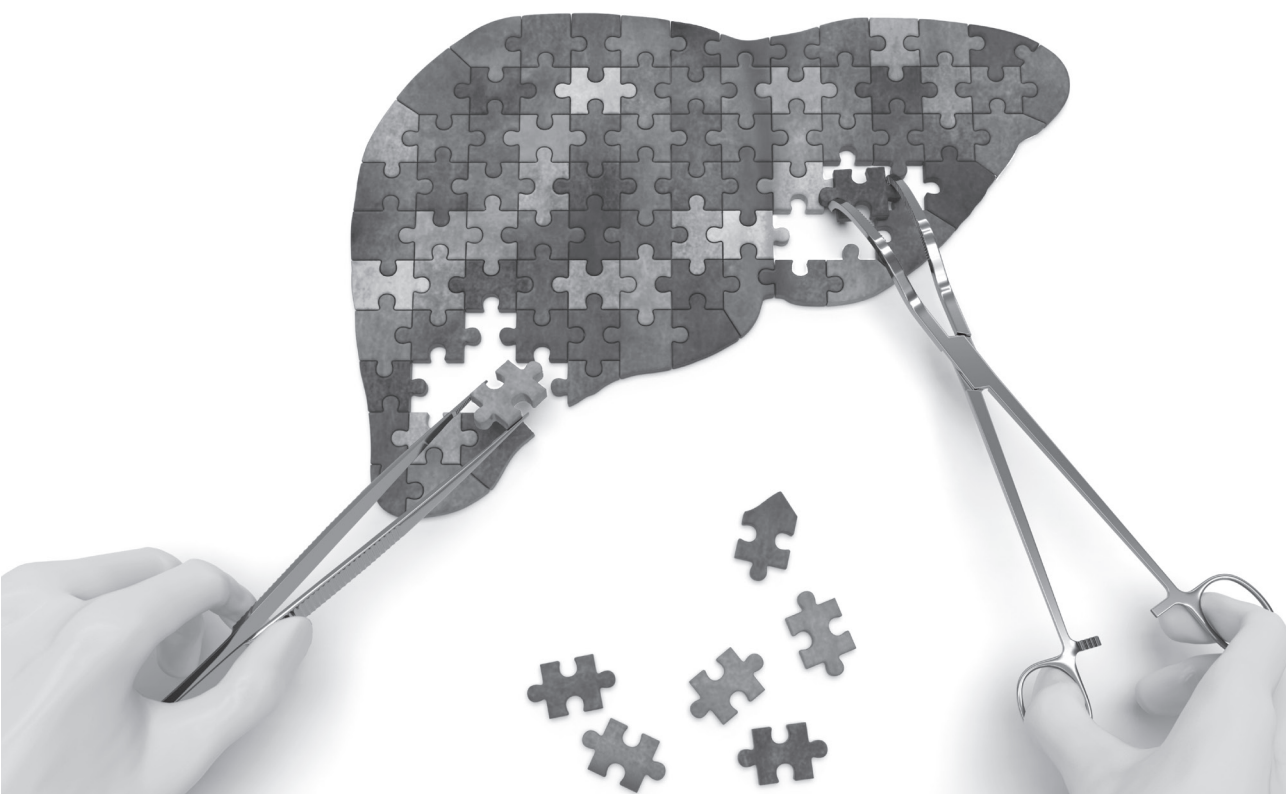


## REFERENCES

1. van Golen RF, Reiniers MJ, Heger M, Verheij J. Solutions to the discrepancies in the extent of liver damage following ischemia/reperfusion in standard mouse models. *J Hepatol.* Apr 2015;62(4):975-977.
2. van Riel WG, van Golen RF, Reiniers MJ, Heger M, van Gulik TM. How much ischemia can the liver tolerate during resection? *Hepatobiliary Surg Nutr.* Feb 2016;5(1):58-71.
3. Pruvot FR, Truant S. Major hepatic resection: from volumetry to liver scintigraphy. *HPB (Oxford).* Sep 2016;18(9):707-708.
4. Jansen PL, Schaap FG. Pandora's box opens for cholestatic liver disease. *Hepatology.* Mar 2016;63(3):694-696.
5. van de Laarschot LF, Jansen PL, Schaap FG, Olde Damink SW. The role of bile salts in liver regeneration. *Hepatol Int.* Sep 2016;10(5):733-740.
6. Farges O, Regimbeau JM, Fuks D, et al. Multicentre European study of preoperative biliary drainage for hilar cholangiocarcinoma. *Br J Surg.* Jan 2013;100(2):274-283.
7. Wiggers JK, Groot Koerkamp B, Cieslak KP, et al. Postoperative Mortality after Liver Resection for Perihilar Cholangiocarcinoma: Development of a Risk Score and Importance of Biliary Drainage of the Future Liver Remnant. *J Am Coll Surg.* Aug 2016;223(2):321-331 e321.
8. Beuers U, Trauner M, Jansen P, Poupon R. New paradigms in the treatment of hepatic cholestasis: from UDCA to FXR, PXR and beyond. *J Hepatol.* Apr 2015;62(1 Suppl):S25-37.
9. Kumagai A, Fukushima J, Takikawa H, Fukuda T, Fukusato T. Enhanced expression of farnesoid X receptor in human hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* Sep 2013;43(9):959-969.
10. Guo F, Xu Z, Zhang Y, et al. FXR induces SOCS3 and suppresses hepatocellular carcinoma. *Oncotarget.* Oct 27 2015;6(33):34606-34616.
11. Dai J, Wang H, Shi Y, Dong Y, Zhang Y, Wang J. Impact of bile acids on the growth of human cholangiocarcinoma via FXR. *J Hematol Oncol.* Oct 12 2011;4:41.
12. Hirschfield GM, Mason A, Luketic V, et al. Efficacy of obeticholic acid in patients with primary biliary cirrhosis and inadequate response to ursodeoxycholic acid. *Gastroenterology.* Apr 2015;148(4):751-761 e758.
13. Miura S, Mitsuhashi N, Shimizu H, et al. Fibroblast growth factor 19 expression correlates with tumor progression and poorer prognosis of hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer.* Feb 06 2012;12:56.
14. Ho HK, Pok S, Streit S, et al. Fibroblast growth factor receptor 4 regulates proliferation, anti-apoptosis and alpha-fetoprotein secretion during hepatocellular carcinoma progression and represents a potential target for therapeutic intervention. *J Hepatol.* Jan 2009;50(1):118-127.
15. Luo J, Ko B, Elliott M, et al. A nontumorigenic variant of FGF19 treats cholestatic liver diseases. *Sci Transl Med.* Jul 30 2014;6(247):247ra100.
16. Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, et al. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings. *Ann Surg.* Mar 2012;255(3):405-414.
17. Schadde E, Ardiles V, Robles-Campos R, et al. Early survival and safety of ALPPS: first report of the International ALPPS Registry. *Ann Surg.* Nov 2014;260(5):829-836; discussion 836-828.
18. Schadde E, Malago M, Hernandez-Alejandro R, et al. Monosegment ALPPS hepatectomy: extending resectability by rapid hypertrophy. *Surgery.* Apr 2015;157(4):676-689.
19. Tschuor C, Croome KP, Sergeant G, et al. Salvage parenchymal liver transection for patients with insufficient volume increase after portal vein occlusion -- an extension of the ALPPS approach. *Eur J Surg Oncol.* Nov 2013;39(11):1230-1235.
20. Simoneau E, Hassanain M, Shaheen M, et al. Portal vein embolization and its effect on tumour progression for colorectal cancer liver metastases. *Br J Surg.* Sep 2015;102(10):1240-1249.

# SUMMARY

**Nederlandse samenvatting**



## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Leverregeneratie maakt het mogelijk dat tot wel 75% van de lever operatief kan worden verwijderd wat een curatieve behandeling kan betekenen voor patiënten met leverkanker of levermetastasen. Leverchirurgie gaat echter gepaard met substantiële risico's, weerspiegeld door een aanzienlijke incidentie van complicaties en mortaliteit. Optimalisatie van verschillende factoren van de leverchirurgie zouden de uitkomsten kunnen verbeteren. Het reduceren van peroperatieve ischemie zou kunnen zorgen voor behoud van leverfunctie na de operatie en verbetering van leverregeneratie. Preoperatieve optimalisatie door middel van vena portae embolisatie (VPE) kan de restlever laten groeien waardoor er veilig meer van de lever kan worden verwijderd, maar de selectie van patiënten hiervoor is lastig. Stimulatie van de galzoutreceptor, farnesoid x-receptor (FXR), is een veelbelovend alternatief om regeneratie te stimuleren. Nieuwe chirurgische technieken zoals 'gelijktijdige levertranssectie met vena portae ligatie tijdens een leverresectie in twee fasen' (ALPPS) kunnen de mogelijkheden vergroten maar zijn niet onomstreden. Dit proefschrift had als doel leverregeneratie en leverchirurgie te verbeteren door middel van zowel experimentele als klinische studies.

### Ischemie en reperfusie schade

Tijdens leverchirurgie kan overmatig bloedverlies worden voorkomen door de aanvoerende bloedvaten tijdelijk af te klemmen. Hoewel dit bloedverlies en complicaties kan voorkomen, ontstaat er wel ischemie en reperfusie (I/R) schade. I/R is een steriele ontstekingsreactie die de leverfunctie kan aantasten en is uitvoerig onderzocht door middel van experimenten in muizen. In **hoofdstuk 1** werd de validiteit van deze muismodellen in twijfel getrokken. De studie liet zien dat boven een drempel aan leverschade die afhankelijk is van ischemieduur, de postoperatieve leverfunctie sterk werd beperkt. In patiënten wordt deze drempel waarschijnlijk nooit bereikt doordat levernecrose in de restlever van patiënten beperkt is en de leverfunctie na operaties behouden blijft. In tegenstelling tot muismodellen waarin vaak 60 tot 90 minuten ischemie wordt toegepast waarna de leverfunctie ernstig beperkt is en meer dan 75% van de lever necrotisch is. Daarnaast verschilt de mate van ontstekingsreactie tussen modellen met milde en ernstige schade. De resultaten van de muizenstudies moeten dan ook terughoudend worden geïnterpreteerd en klinische validatie van experimentele resultaten essentieel is voor ontwikkeling van nieuwe behandelingen.

**Hoofdstuk 2** is een voorbeeld van een verschil in ontstekingsreactie tussen milde en ernstige schade muismodellen met beperkte klinische translatie. Interleukine 23 en 17A zijn in diverse studies gerelateerd aan I/R schade in muizen via productie van interleukine 1 $\beta$ . De huidige studie liet zien dat interleukine 1 $\beta$  alleen in het model waarin in ernstige schade wordt

geïnduceerd wordt aangemaakt en niet bij milde schade. Daarnaast werden interleukine 23 en 17A niet aangetoond in beide muis modellen. De afwezigheid van interleukine 23 en 17A werd bevestigd in bloedmonsters van een cohort patiënten die een grote leverresectie onderging met of zonder peroperatieve ischemie. In beide groepen werd geen interleukine 23 of 17A aangetoond waardoor wij concludeerden dat deze interleukines niet betrokken zijn bij I/R schade van de lever.

Hypothermie is de enige klinisch toegepaste strategie om I/R schade te beperken tijdens leverchirurgie en transplantatie. In **hoofdstuk 3** werden de beschermende mechanismen van hypothermie beschreven. On andere wordt het metabolisme geremd waardoor er minder zuurstofradicalen worden gevormd. Daarnaast remt hypothermie de ontstekingsreactie en beschermt het de functie en expressie van hepatocellulaire transporters. Deze effecten zorgen mogelijk voor behoud van leverfunctie na leverchirurgie, deze effecten werden onderzocht in **hoofdstuk 4**. In een gerandomiseerde studie zorgde in situ hypotherme perfusie met retrograde drainage tijdens grote lever resecties voor verbeterde postoperatieve lever regeneratie. Echter werden transaminase waarden, klinische uitkomsten en ontstekingsparameters niet beïnvloed. De verbeterde regeneratie suggereert dat patiënten met kleine restlevers met co-morbiditeit baat zouden kunnen hebben bij deze techniek. De techniek leidt echter tot een langere operatieduur wat de uitkomsten zou kunnen verslechteren en het is nog onduidelijk of dit opweegt tegen de beschermende effecten op I/R schade.

In **hoofdstuk 5** werd de voorspellende waarde van postoperatieve transaminase waarden na leverchirurgie onderzocht voor postoperatieve morbiditeit en mortaliteit. Het bleek dat operatieduur en niet de duur van leverischemie de hoogte van transaminasewaarden bepaalt. De hoogte van postoperatieve transaminase waarden was een onafhankelijke voorspeller van morbiditeit en mortaliteit. Deze waarden hebben dus vroeg voorspellende waarde voor uitkomsten, in het bijzonder na grote leverresecties en na resectie voor perihilair cholangiocarcinoom.

### **Vena portae embolisatie**

Embolisatie van de vena portae zorgt voor compensatoire groei van de niet geëmboliseerde leversegmenten en wordt toegepast voor grote leverresecties om het levervolume dat veilig verwijderd kan worden te vergroten. Indien tumorprogressie optreedt na VPE waardoor resectie onmogelijk wordt, is de van portaal bloed geïsoleerde lever mogelijk meer vatbaar voor complicaties. Tijdelijke VPE heeft daarom mogelijk voordelen en zou zelfs gebruikt kunnen worden bij levende leverdonatie. In **hoofdstuk 6** werd een reversibele VPE methode ontwikkeld in konijnen met een goede leverhypertrofie respons en 80%



reversibiliteit na 42 dagen door gebruik van fibrinelijm met aprotinine. Na absorptie van het embolisatiemateriaal was er zeer beperkte leverschade bij histologisch onderzoek zichtbaar waardoor de leverlobben functioneel lijken na oplossing van de fibrinelijm. Deze resultaten vragen om nader onderzoek en zijn veelbelovend voor toepassing van reversibele VPE voor leverdonatie bij levende donoren.

**Hoofdstuk 7** bevestigde de klinische relevantie van VPE in het konijnenmodel, gezien de vele overeenkomsten tussen de toename in levervolume en functie na VPE in konijnen vergeleken met de toename in patiënten. In tegenstelling tot modellen in ratten, zorgde VPE in konijnen niet voor ernstige necrose van de lever. Necrose is ook niet gebruikelijk in patiënten en gezien necrose substantiële systemische effecten heeft, is het konijnen model meest waarschijnlijk relevanter dan modellen in ratten.

De selectie van patiënten voor VPE is lastig, dit geldt vooral voor patiënten met perihilaire cholangiocarcinoom (PHC) omdat deze patiënten vaak lijden aan obstructieve cholestase en geelzucht. Hierdoor is vaak galwegdrainage nodig, wat cholangitis kan veroorzaken. Naast een kleine restlever zijn obstructieve cholestase en cholangitis risicofactoren voor leverfalen na leverchirurgie. In **Hoofdstuk 8** werd een risicoscore beschreven om leverfalen te voorspellen in patiënten met PHC. Cholangitis, geelzucht bij presentatie en preoperatieve bilirubine waarden bleken sterkere risicofactoren voor leverfalen dan het volume van de restlever. Selectie van patiënten voor VPE op basis van alleen levervolume is dan ook inaccuraat en de risicoscore kan helpen om patiënten met een hoog risico op leverfalen te identificeren.

De functie van de restlever is mogelijk de belangrijkste voorspeller van postoperatief leverfalen. <sup>99m</sup>Tc-mebrofenine opname gemeten door middel van hepatobiliaire scintigrafie (HBS) een maat voor leverfunctie. **Hoofdstuk 9** liet zien dat leverfunctie gemeten met HBS het risico op leverfalen na een grote lever resectie voor PHC kan voorspellen. Vergeleken met levervolume was de negatief voorspellende waarde voor leverfalen van voldoende leverfunctie hoger en daardoor is leverfunctie gemeten door middel van HBS waardevoller om patiënten met PHC voor VPE te selecteren dan levervolume metingen.

Morbiditeit en mortaliteit na leverchirurgie voor PHC is aanzienlijk en leverfalen kan slechts een deel hiervan verklaren. Preoperatieve risico inschatting is dan ook belangrijk om de selectie van patiënten voor resectie te optimaliseren en om patiënten goed te kunnen informeren over de risico's van de behandeling. In **hoofdstuk 10** werden de e-PASS en me-PASS risico scores extern gevalideerd in een cohort van patiënten die een lever resectie ondergingen voor PHC. Beide e-PASS modellen identificeerden patiënten met een hoog

risico op overlijden tijdens de ziekenhuisopname. De me-PASS score kan voor de resectie worden gebruikt met preoperatieve variabelen en is daarom van waarde voor gedeelde besluitvorming.

### **Galzouten en leverregeneratie**

**Hoofdstuk 11** liet zien dat een intacte enterohepatische circulatie van galzouten essentieel is na een grote leverresectie vanwege PHC voor adequate leverregeneratie en het voorkomen van leverfalen. In de aanwezigheid van een postoperatieve externe galdrain was de incidentie van leverfalen meer dan 5 maal hoger. Postoperatieve externe galdrainage moet daarom worden voorkomen of de extern drainerende gal moet worden terug gegeven.

Galzouten stimuleren leverregeneratie via de farnesoid x-receptor (FXR) waarvoor potente agonisten zoals obeticholzuur zijn ontwikkeld. De studie in **hoofdstuk 12** liet zien dat obeticholzuur leverregeneratie na VPE versnelt. Dit werd gemeten middels een sterkere toename in leverbolume, leverfunctie en meer Ki67 positieve celkernen, zonder tekenen van toxiciteit. De resultaten laten zien dat obeticholzuur de effectiviteit van VPE mogelijk kan verbeteren en het interval tussen VPE en chirurgie zou kunnen verkorten. Als de resultaten ook van toepassing zijn op regeneratie na resectie ook obeticholzuur postoperatief leverfalen mogelijk kunnen voorkomen.

Voornamelijk patiënten met PHC lopen het risico op postoperatief leverfalen door de obstructieve cholestase. Daarom werd obeticholzuur getest in een model van partiële hepatectomie in cholestatische ratten in **hoofdstuk 13**. Obeticholzuur induceerde groei van cholestatische levers, maar verergerde ook de cholestatische schade door toegenomen galzout export in de geobstrueerde galwegen vanwege verhoogde galzout export pomp expressie. Na partiële hepatectomie stimuleerde obeticholzuur de regeneratie niet, maar de levers van met obeticholzuur behandelde ratten waren groter ten tijde van resectie, daarom zijn conclusies hierover moeizaam. Desondanks laat de studie zien dat FXR agonisten een veelbelovende behandeling zijn voor deze groep patiënten.

In **hoofdstuk 14** werd een obstructieve cholestase model in hamsters beschreven, met veel overeenkomsten met humane cholestase. Het hamstermodel kan mogelijk waardevolle inzichten geven in de respons van obstructieve cholestase, vooral omdat in hamsters net als in mensfibroblast groeifactor 19 (FGF19) tot expressie komt tijdens cholestase, in tegenstelling tot ratten en muizen. Omdat FGF19 wordt gezien als anti-cholestatisch medicijn heeft het model de potentie om de exacte effecten van FGF19 tijdens cholestase te onderzoeken.





### **Gelijktijdige lever transsectie met vena portae ligatie tijdens een lever resectie in twee fasen**

ALPPS maakt uitgebreide lever resecties mogelijk door een sterke en snelle hypertrofie respons van de restlever. In **hoofdstuk 15** werden de beperkingen beschreven die gepaard aan met de introductie van ALPPS in de klinische praktijk. Onder andere de relevantie van de snelle hypertrofie respons na de eerste fase van ALPPS wordt in twijfel getrokken omdat leverfalen na ALPPS vaak voorkomt en de morbiditeit en mortaliteit hoog is, ondanks de snelle en sterke hypertrofie van de lever. In **hoofdstuk 16** werd beschreven dat de toename in leverbolume waarschijnlijk de toename in leverfunctie overschat wanneer er levertranssectie aan VPE in konijnen werd toegevoegd. Hoewel levertranssectie de toename in leverbolume meer dan verdubbelt na VPE, bleef de toename in leverfunctie gelijk.

Deze resultaten in konijnen werden bevestigd in **hoofdstuk 17** door middel van data van patiënten die ALPPS ondergingen. Na ALPPS nam het leverbolume sterker toe dan de leverfunctie. In tegenstelling tot VPE waarna de toename in leverfunctie juist voorloopt op de toename van het volume. Deze resultaten laten zien dat de toename in leverbolume na ALPPS niet-functionele onrijpe hepatocyten betreft en vraagt om implementatie van leverfunctie metingen tijdens ALPPS om de klinische uitkomsten te verbeteren en leverfalen te voorkomen.

De oncologische uitkomsten van ALPPS voor uitgebreide colorectale levermetastasen (CRLM) werden geanalyseerd in **hoofdstuk 18**. De overleving van patiënten met uitgebreide CRLM na ALPPS was vergelijkbaar met gematchte patiënten die behandeld werden met palliatieve systemische therapie. Ook de ziektevrije overleving na ALPPS is beperkt vergeleken met andere chirurgische technieken. Het interval tussen de twee fasen van ALPPS is waarschijnlijk te kort om tumor progressie te detecteren, in tegenstelling tot VPE waarbij in de weken tussen VPE en resectie regelmatig tumorprogressie wordt gezien. Bij ALPPS verschuift deze progressie waarschijnlijk naar de postoperatieve periode en het valt te bezien welke plaats ALPPS in de behandeling van CRLM heeft, zeker gezien de verbeterde resultaten van de moderne systemische therapie. Wellicht is adequate selectie van patiënten en niet het vergroten van de resectabiliteit de beste optie om de uitkomsten voor patiënten met CRLM te verbeteren, waarschijnlijk hebben niet alle patiënten baat bij chirurgische resectie.

In **hoofdstuk 19** werden de uitkomsten van ALPPS voor PHC vergeleken met gematchte patiënten die een standaard resectie ondergingen voor PHC. De mortaliteit na ALPPS was 48% vergeleken met 24% na standaard resectie in patiënten met vergelijkbare restlever volumes als de ALPPS groep. De mortaliteit van 48% en mediane overleving van 6 maanden na ALPPS voor PHC zijn onacceptabel en daarom is ALPPS nu geen goede behandeling voor patiënten met PHC.