

# Postoperative liver (dys)function

Citation for published version (APA):

van Mierlo, K. M. C. (2022). *Postoperative liver (dys)function: determinants and interventions*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20220708km>

## Document status and date:

Published: 01/01/2022

## DOI:

[10.26481/dis.20220708km](https://doi.org/10.26481/dis.20220708km)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## SUMMARY

**Chapter 1** is a general introduction describing the aims of this thesis. Postresectional liver failure (PLF) is a feared complication after liver resection for primary liver cancer or colorectal cancer liver metastases. It comprises of impaired secretory, detoxifying, and synthetic function of the liver. Multiple definitions of liver failure are used in studies on outcomes after partial liver resection. We assessed the current definitions and functional endpoints of PLF. The aetiology of this complex syndrome lies, amongst others, in a disbalance of remaining quality and quantity of liver tissue, and disturbed bile salt homeostasis. We therefore investigated the role of impaired liver quality due to chemotherapy-induced liver injury on the prevalence of PLF. Next, we created a mouse model to study liver failure, and examined the role of bile salts and bile salt receptor (FXR) agonism in (the prevention of) liver failure and acceleration of postresectional liver regeneration.

**In chapter 2**, we discuss the current state and new developments in prediction, prevention, and management of PLF, in light of novel insights into the aetiology of this complex syndrome. Despite improved perioperative care, the increasing complexity and extensiveness of surgical interventions, in combination with an expanding number of resections in patients with compromised liver function, still results in an incidence of PLF of 1–9%. Preventive measures aim to enhance future remnant liver size and function. Numerous non-invasive techniques to assess liver function and predict remnant liver volume are being developed, along with introduction of novel surgical strategies that augment growth of the future remnant liver. Detection of PLF is often too late and treatment is primarily symptomatic. Current therapeutic research focuses on ([bio] artificial) liver function support and regenerative medicine.

Chemotherapy is often used as neoadjuvant therapy to downsize initially irresectable colorectal liver metastases. However, liver injury is demonstrated in most patients. Sinusoidal dilatation occurs in patients with colorectal liver metastases after administration of oxaliplatin-based chemotherapy. In **chapter 3** we studied the influence of sinusoidal dilatation (SD) on short-term outcome after partial hepatectomy for CRLM. Multiple online databases were searched for studies published between 01.01.2004 and 09.06.2015. We included studies comprising adults who underwent partial hepatectomy for CRLM with grading of SD and registration of postoperative morbidity and/or mortality. Meta-analysis on the available data showed that there was no significant influence of SD on overall morbidity, PLF, overall mortality, and liver-related morbidity after partial hepatectomy. However, critical evaluation of included evidence by assessment with the QUIPS and GRADE tools, showed a very low quality of outcome-specific evidence. This may be explained by a.o. suboptimal study design and variation in inclusion criteria and outcomes.

Because of the limited confidence in the provided evidence, this study could not provide clinical advice on our topic.

In **chapter 4** we aimed to explore whether SD), steatosis, and steatohepatitis were associated with increased morbidity and mortality rates after partial hepatectomy. To increase confidence in our evidence, we performed a systematic literature review following the Moose and PRISMA guidelines and contacted all authors of the included articles. A large dataset of multiple international centers with individual participant data was created, and we performed uni- and multivariable analyses. We observed increased postresectional major morbidity and liver surgery-specific complications after partial hepatectomy in patients with SD and steatohepatitis, whereas steatosis was associated with a decreased occurrence of complications. Moreover, PLF occurred more often in patients with severe SD. With respect to steatohepatitis, lobular inflammation was strongly linked to increased postresectional morbidity. Oxaliplatin was strongly related to an increased occurrence of severe SD, and the addition of bevacizumab to oxaliplatin-based regimen reduced the occurrence of severe SD.

In the era of a declining event-rate, a sound trial on liver-surgery specific complications with a dichotomous endpoint requires large sample sizes. Surrogate endpoints (SEPs) are considered a potential solution for this problem. A SEP is a laboratory measurement or a physical sign used as a substitute for a clinically meaningful endpoint that measures directly how a patient feels, functions or survives. In **chapter 5** we aimed to summarize and validate the SEPs of a total of 49 articles representing the effect of surgically induced damage that are being used in liver surgery trials. Standard biochemical liver functions tests were the most frequently used SEPs. The used definitions of SEPs varied greatly among the studies. Although we found rationalizing the selection of SEPs used in most of the studies, no validating studies were found. Therefore, we were not able to verify the relationship between the surrogate and the clinical endpoint or determine parallel estimates of risks and benefits between the surrogate and clinical endpoint.

In 2007, Mullen stated that the occurrence of a systemic total bilirubin level of >7.0 mg/dL ( $\geq 120 \mu\text{mol/L}$ , 'peak bilirubin criterion') within 90 days after major hepatectomy provides a positive predictive value of 32.6% for liver-related death. In **chapter 6** we validated the peak bilirubin criterion as one of the most used SEPs for postresectional liver-related mortality. Patient and surgical characteristics of 956 consecutive patients who underwent partial hepatectomy in two European centers were analysed by uni- and multivariable analyses. Sensitivity and specificity for liver-related mortality after major hepatectomy were 41.2% and 94.6%, respectively. Although the peak bilirubin criterion

was an independent predictor, the positive predictive value was only 22.6% for 90-day liver-related mortality after major hepatectomy.

One of the important functions of the liver is the defence against (chemical) challenges and intoxications. Radicals are scavenged through reaction with the liver-derived tripeptide glutathione (GSH), an important determinant of liver function. Animal studies indicate that systemic ophthalmic acid (OPH) is a biomarker for hepatic glutathione (GSH) homeostasis. In **chapter 7** we investigated whether plasma OPH is useful as a read-out for hepatic GSH depletion in humans. We stressed hepatic detoxification capacity with APAP challenges during pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (PPPD) or partial hepatectomy (PH) in nineteen patients. Our main finding is that systemic GSH levels decreased during APAP challenges in both surgical groups, but this was not accompanied by a reciprocal increase in plasma OPH. Hepatic GSH, OPH and thiyl radicals were not affected after administration of the first APAP dose in patients undergoing PPPD or PH. We did not observe net hepatic GSH release prior to, or after APAP administration in the present study. This indicates that APAP did not result in acute oxidative stress or prompt alterations in hepatic GSH homeostasis, and it seems thus unlikely that hepatic GSH homeostasis was sufficiently challenged in the present study.

To find an appropriate therapy to treat and/or prevent the occurrence of liver failure after resection, an experimental animal model would be of great value. Postresectional hyperbilirubinemia suggests that impaired hepatobiliary transport with intrahepatic accumulation of harmful cholephiles plays an etiological role. We hypothesized that excessive accumulation of bile salts in the regenerating liver remnant is the actual culprit in PLF. To study this, we induced bile salt overload in the regenerating liver of twelve weeks old male C57BL6/J mice by feeding them a diet supplemented with cholic acid (CA, 0.5 or 1.0%) or control diet after 70% PH (**chapter 8**). Mice were sacrificed at 48 hours, thus around the time of maximal hepatocyte proliferation. Mice fed a 1.0% CA diet displayed more pronounced weight loss, had poorer 'clinical' performance and overall decreased glucose levels after PH. Moreover, liver injury and impaired hepatobiliary transport function were apparent in the group fed a 1.0% CA diet, but not in animals fed a 0.5% CA diet. Although no effect of the 1.0 % CA diet was seen on liver mass recovery, impaired hepatocyte proliferation was noted.

Although a bile salt overload seems to induce PLF, data from animal experiments indicate that bile salt signaling via the Fxr-Fgf15 axis is required for liver regeneration and prevention of liver injury after PH. In **chapter 9** we investigated whether exogenous activation of the Fxr pathway with the potent semi-synthetic bile acid obeticholic acid (OCA) could stimulate postresectional liver regeneration in mice. In the first part of this study, groups

of twelve weeks old mice were pre-treated with OCA or vehicle and sacrificed after 70% PH. Unexpectedly, we observed a steep decline in body weight and glycemia after PH in the OCA-treated group. We therefore replenished drinking water with sucrose for OCA-treated mice in the second part of the study. We also included a group of mice receiving intraperitoneal injections of FGF19 as a positive control group. No effect could be detected on liver mass recovery or number of proliferating hepatocytes after PH, although responses of *Cyp7a1*, *Cyp8b1* and other Fxr target genes implied general effectiveness of OCA treatment. PH. Serum and liver bile salt content were not influenced by treatment before and after PH. Besides, welfare was decreased in OCA-treated animals after PH. After pre-treatment of mice with FGF19, FGF19-mediated repression of bile salt synthesis was seen, but this did not stimulate postresectional liver regeneration in mice. In our opinion, this indicates that in a normal liver background, liver regeneration after 70% PH already progresses optimally, likely through balanced bile salt homeostasis and effective endogenous bile salt signalling.

## SAMENVATTING

**Hoofdstuk 1** is een algemene inleiding waarin de doelstellingen van dit proefschrift worden beschreven. Postresectioneel leverfalen (PLF) is een gevreesde complicatie na partiële hepatectomie (PH) voor primaire leverkanker of levermetastasen bij colorectale kanker. Het bestaat uit een verstoorde secretoire, detoxificerende en synthetische functie van de lever. Meerdere definities van leverfalen worden gebruikt in onderzoeken naar uitkomsten van leverresecties. We hebben de huidige definities en functionele eindpunten van PLF beoordeeld. De etiologie van dit complexe syndroom ligt onder meer in een disbalans van de resterende kwantiteit en kwaliteit van het leverweefsel en een verstoorde homeostase van galzouten. We onderzochten daarom de rol van de verminderde leverkwaliteit als gevolg van chemotherapie-geïnduceerde leverschade op de prevalentie van PLF. Vervolgens creëerden we een muismodel om leverfalen te bestuderen, en onderzochten we de rol van galzouten en nucleair Farnesoid X Receptor-agonisme bij (de preventie van) leverfalen en versnelling van postresectionele leverregeneratie.

In **hoofdstuk 2** onderzoeken we de huidige stand van zaken en ontwikkelingen in de voorspelling, preventie en behandeling van PLF. Ondanks de verbetering in perioperatieve zorg, zorgen de toenemende complexiteit en uitgebreidheid van chirurgische interventies in combinatie met het toenemende aantal resecties in patiënten met een verminderde leverfunctie, voor een incidentie van PLF van 1-9%. Interventies zijn erop gericht het toekomstige leverbolume te vergroten en de functie te optimaliseren. Meerdere niet-invasieve technieken die de leverfunctie in kaart brengen en het toekomstige leverbolume voorspellen zijn in ontwikkeling, samen met nieuwe chirurgische strategieën die de groei van de toekomstige lever stimuleren. Detectie van PLF is vaak laat en de behandeling is primair symptomatisch. Huidige behandelstrategieën richten zich op ondersteuning van de leverfunctie en de regeneratieve geneeskunde.

Chemotherapeutica worden vaak neo-adjuvant gebruikt om initieel inoperatieve colorectale levermetastasen te verkleinen. Dit kan echter ook leverschade tot gevolg hebben. Dilatatie van de sinusoiden komt vaker voor bij patiënten met colorectale levermetastasen na het gebruik van oxaliplatine. In **hoofdstuk 3** bestudeerden we de invloed van sinusoidale dilatatie (SD) op korte-termijn uitkomsten na PH voor colorectale levermetastasen. In meerdere online databases zochten we naar studies in volwassenen die tussen 2004 en 2015 PH ondergingen voor colorectale levermetastasen en waarbij de korte termijnuitkomsten en leverschade waren gedocumenteerd. Meta-analyses op de beschikbare data lieten zien dat er geen significante invloed was van sinusoidale dilatatie op morbiditeit, leverfalen, mortaliteit en lever-gerelateerde morbiditeit na PH. Evaluatie van de geïnccludeerde literatuur middels de QUIPS en GRADE scorelijsten lieten echter een lage

kwaliteit van het bewijs zien. Dit kon onder andere verklaard worden door de suboptimale opzet van studies en variatie in inclusiecriteria. Door de verminderde betrouwbaarheid van ons bewijs, konden we geen conclusies trekken.

In **hoofdstuk 4** onderzochten we of SD, steatose en steatohepatitis geassocieerd waren met verhoogde morbiditeit en mortaliteit na PH. Om het vertrouwen in het bewijsmateriaal te vergroten, voerden we een systematisch literatuuronderzoek volgens de Mooseren PRISMA-richtlijnen uit en namen contact op met de auteurs van de geïncludeerde artikelen. We creëerden een grote dataset van meerdere internationale centra met individuele deelnemersgegevens waarop we uni- en multivariabele analyses uitvoerden. We observeerden verhoogde postoperatieve ernstige morbiditeit en leveroperatie-specifieke complicaties na PH bij patiënten met SD en steatohepatitis, terwijl steatose geassocieerd was met een verminderd optreden van complicaties. Bovendien kwam PLF vaker voor bij patiënten met ernstige SD. Oxaliplatine was sterk gerelateerd aan een verhoogd optreden van ernstige SD, en de toevoeging van bevacizumab aan een op oxaliplatine-gebaseerd chemotherapie-regime verminderde het optreden van ernstige SD.

In het tijdperk van een dalend aantal postoperatieve complicaties, vereist een degelijk onderzoek naar leveroperatie-specifieke complicaties met een dichotoom eindpunt een grote omvang van de studiepopulatie. Surrogaateindpunten (SEPs) worden beschouwd als een mogelijke oplossing voor dit probleem. Een SEP is een laboratoriummeting of een fysiek kenmerk van de patient dat wordt gebruikt als vervanging voor een klinisch eindpunt dat direct meet hoe een patiënt zich voelt of functioneert. In **hoofdstuk 5** hebben we getracht SEPs in 49 artikelen over leverchirurgie-geïnduceerde schade te analyseren. Biochemische leverfunctietesten waren de meest gebruikte SEPs. De gebruikte definities van SEPs varieerden sterk tussen de onderzoeken. We vonden geen validerende onderzoeken naar de SEPs, waardoor we niet in staat waren om de relatie tussen het surrogaat en het klinische eindpunt te verifiëren.

In 2007 verklaarde Mullen et al. dat het optreden van een serum bilirubinespiegel van >7,0 mg/dL ( $\geq 120 \mu\text{mol/L}$ , 'piek bilirubine criterium') binnen 90 dagen na uitgebreide hepatectomie een gevoeligheid van 93,3% voor levergerelateerd overlijden geeft, en een positief voorspellende waarde van 33,6%. In **hoofdstuk 6** hebben we het piek bilirubine criterium gevalideerd als een van de meest gebruikte SEPs voor postresectionele levergerelateerde mortaliteit. Patiënt- en chirurgische kenmerken van 956 patiënten die PH ondergingen in twee Europese centra werden geanalyseerd door middel van uni- en multivariabele analyses. De sensitiviteit en specificiteit voor levergerelateerde mortaliteit na uitgebreide hepatectomie waren respectievelijk 41,2% en 94,6%. Hoewel het piek bilirubine criterium

een onafhankelijke voorspeller was, was de positief voorspellende waarde slechts 22,6% voor levergerelateerde mortaliteit binnen 90 dagen na uitgebreide hepatectomie.

Een van de belangrijke functies van de lever is de verdediging tegen (chemische) intoxicaties. Radicalen worden weggevangen door reactie met het tripeptide glutathion (GSH), een belangrijke determinant voor leverfunctie. Dierstudies geven aan dat plasma ofalmaat (OPH) een biomarker is voor glutathion (GSH) homeostase in de lever. In **hoofdstuk 7** hebben we onderzocht of plasma-OPH bruikbaar is als read-out voor lever-GSH-depletie bij mensen. We belasten de detoxificatie capaciteit van de lever met APAP-giften tijdens pylorusbehoudende pancreaticoduodenectomie (PPPD) of PH bij negentien patiënten. Onze belangrijkste bevinding is dat plasma GSH-spiegels tijdens de APAP-giften in beide chirurgische groepen afnamen, maar dit ging niet gepaard met een toename van plasma OPH. Hepatische GSH-, OPH- en thylradicalen werden niet beïnvloed na toediening van de eerste APAP-dosis bij patiënten die PPPD of PH ondergingen. We namen geen netto hepatische GSH-afgifte waar vóór of na APAP-toediening. Dit geeft aan dat APAP giften niet resulteerden in acute oxidatieve stress of veranderingen in GSH-homeostase in de lever. Het lijkt dus onwaarschijnlijk dat de hepatische GSH-homeostase voldoende werd belast in de huidige studie.

Om een geschikte therapie of preventie te vinden voor postoperatief leverfalen, zou een diermodel van grote waarde zijn. Postoperatieve hyperbilirubinemie suggereert dat een verstoord hepatobiliair transport met intrahepatische accumulatie van schadelijke galzouten een rol speelt. We veronderstelden dat overmatige ophoping van galzouten in het regenererende leverresidu bijdraagt aan de ontwikkeling van PLF. Om dit te bestuderen, induceerden we galzoutoverbelasting in de regenererende lever van mannelijke C57BL6/J-muizen door ze een dieet te geven aangevuld met cholaat (CA, 0,5 of 1,0%) of een controle dieet na 70% hepatectomie (**hoofdstuk 8**). Muizen werden opgeofferd na 48 uur. Muizen die een CA-dieet van 1,0% kregen, vertoonden meer uitgesproken gewichtsverlies, functioneerden klinisch slechter en hadden verlaagde glucosespiegels na PH. Bovendien toonden muizen met een 1,0% CA-dieet leverbeschadiging en verminderde lever- en galtransportfunctie, terwijl dit niet werd gezien in muizen die een 0,5% CA-dieet kregen. Hoewel er geen effect van het 1,0% CA-dieet werd waargenomen op het herstel van de levermassa, werd wel een verminderde proliferatie van hepatocyten geobserveerd.

Hoewel een overdosis van galzouten postoperatief leverfalen lijkt te induceren, tonen gegevens uit dierexperimenten dat galzouten wel noodzakelijk zijn voor leverregeneratie en het voorkomen van leverbeschadiging na PH, via de hepatische Fxr- en ileale Fxr-Fgf15-as. In **hoofdstuk 9** hebben we onderzocht of exogene activering van de Fxr-route met het krachtige semi-synthetische obeticholzuur (OCA) postresectionele leverregeneratie bij muizen



kan stimuleren. In het eerste deel van deze studie werden groepen van twaalf weken oude muizen voorbehandeld met OCA of vehiculum en opgeofferd nadat ze 70% PH ondergingen. Onverwachts zagen we in de met OCA behandelde groep een vermindering van het lichaamsgewicht en serum glucose na PH. In het tweede deel van het onderzoek vulden we drinkwater van met OCA behandelde muizen daarom aan met sucrose. Tevens werd als positieve controle een groep muizen opgenomen die intraperitoneale injecties van FGF19 ontving. Hoewel de respons van Cyp7a1, Cyp8b1 en andere Fxr-gerelateerde genen de algemene effectiviteit van OCA-behandeling impliceerden, kon er geen effect worden gevonden op het herstel van de levermassa of het percentage prolifererende hepatocyten na PH. Het galzoutgehalte in serum en lever werden niet beïnvloed door de behandeling voor en na PH. Na voorbehandeling van muizen met FGF19 werd door FGF19 gemedieerde repressie van galzoutsynthese gezien, maar dit stimuleerde postoperatieve leverregeneratie bij muizen niet. Naar onze mening betekent dit dat in een normale leverachtergrond de leverregeneratie na 70% PH al optimaal plaatsvindt, waarschijnlijk door een effectieve en evenwichtige endogene galzoutsignalering.