

Aus dem
CharitéCentrum 8
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie
Direktor: Prof. Dr. P. Neuhaus

Habilitationsschrift

Wertigkeit eines neu entwickelten Verfahrens zur Bestimmung der Leberfunktion in der Leberchirurgie (LiMAX-Test)

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach

Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. Martin Stockmann
geboren am 18.3.1970 in Berlin

Eingereicht: Februar 2009

Datum des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrags: 14.12.2009

Dekanin: Frau Prof. Dr. A. Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Königsrainer, Tübingen

2. Gutachter: Prof. Dr. Ch. Trautwein, Aachen

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Was bedeutet Leberfunktion?	1
1.2	Leberchirurgie und Leberfunktion.....	3
1.3	Methodischer Hintergrund	4
2	Fragestellungen und Ziele der Arbeit	6
3	Material und Methoden.....	7
3.1	Grundsätzliche Methodik von ^{13}C -Atemtesten.....	7
3.1.1	Messmethodik zur Bestimmung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses in der Ausatemluft	7
3.1.2	Funktionsweise des nichtdispersiven isotopenselektiven Infrarotspektrometers (NDIRS).....	8
3.1.3	Berechnung von Atemtestergebnissen	10
3.2	Metabolisierung von ^{13}C -Methacetin durch die Leber	12
3.3	Vorversuche mit dem oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtest	14
3.3.1	Patientenkollektiv	14
3.3.2	Studienablauf	15
3.3.3	Durchführung des oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtests.....	15
3.4	Methodik des Indocyaningrün (ICG)-Tests.....	16
3.5	Einfluss einer akuten Cholestase auf den ICG-Test im Tiermodell	20
3.5.1	Versuchstiere	20
3.5.2	Versuchsablauf	20
3.5.3	Histomorphologie und Laboruntersuchungen	22
3.6	Einfluss von Sauerstoff auf die NDIRS-Messtechnik.....	23
3.7	Entwicklung einer Online-Messung mit der NDIRS-Technik	23
3.7.1	Probleme der NDIRS-Geräte	24
3.7.2	Gerätemodifikationen für eine Online-Messung	24
3.7.3	Entwicklung einer Atemmaske zur Separation der Ausatemluft.....	28
3.7.4	Gesamtaufbau für die Online-Messung.....	30
3.8	Vergleichbarkeit zwischen Online- und konventionellen Beutel-Messungen... 32	
3.9	Entwicklung, Durchführung und Berechnung des LiMAX-Testes.....	32
3.9.1	Durchführung des LiMAX-Testes.....	32
3.9.2	Berechnung des LiMAX-Wertes.....	35
3.10	Spezifität des LiMAX-Testes – anhepatische Messungen	37
3.11	Der LiMAX-Test in der Leberchirurgie.....	38
3.11.1	Patientenkollektiv	38
3.11.2	Normalkollektiv	40
3.11.3	Evaluation des LiMAX-Testes im Vergleich zum Lebervolumen.....	41
3.11.4	Wertigkeit des LiMAX-Test in der Leberchirurgie.....	42
3.12	Ethik	44
3.12.1	Studien mit Patienten oder Probanden	44
3.12.2	Tierversuche	44
3.13	Statistische Analysen	44
4	Ergebnisse	45
4.1	Vorversuche mit dem oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtest	45
4.2	Einfluss einer akuten Cholestase auf den ICG-Test im Tiermodell	50
4.3	Einfluss von Sauerstoff auf die NDIRS-Messtechnik.....	54

4.4	Vergleichbarkeit zwischen Online- und konventionellen Beutel-Messungen...	54
4.5	Spezifität des LiMAx-Testes – anhepatische Messungen	56
4.6	Normalkollektiv	57
4.7	Evaluation des LiMAx-Testes im Vergleich zum Lebervolumen	59
4.8	Wertigkeit des LiMAx-Test in der Leberchirurgie.....	62
4.8.1	Ergebnisse (Outcome) nach Leberteilresektion	62
4.8.2	Prädiktiver Wert des LiMAx-Testes für Mortalität und Morbidität nach Leberteilresektion	65
5	Diskussion	84
5.1	Warum waren bisherige Leberfunktionstests ungeeignet?	84
5.1.1	MEGX-Test	88
5.1.2	Bromsulphothalein-Test	89
5.1.3	ICG-Test	89
5.1.4	Atemtests	92
5.1.5	Andere Tests.....	94
5.1.6	Fazit	95
5.2	Entwicklung eines neuen Tests zur Bestimmung der maximalen Leberfunktionskapazität (LiMAx-Test).....	96
5.3	Wertigkeit des LiMAx-Test in der Leberchirurgie.....	103
6	Zusammenfassung	109
7	Literaturverzeichnis	112
8	Verzeichnis der Abbildungen	124
9	Verzeichnis der Tabellen	126
10	Abkürzungsverzeichnis	127
11	Danksagung.....	128

1 Einleitung

Die Leber ist ein zentrales Organ mit komplexen und mannigfaltigen Stoffwechselfunktionen und deshalb von lebenswichtiger Bedeutung für den Gesamtorganismus (1). Sie wirkt entscheidend mit bei der Synthese von wichtigen Proteinen, Gerinnungsfaktoren und auch Gallensalzen. Weiterhin spielt die Leber für die Homöostase der Körperzusammensetzung eine besondere Rolle, beispielsweise im Glukose- oder Fettstoffwechsel. Ebenso wichtig ist die Entgiftungsfunktion der Leber, ohne die der Körper mit giftigen Stoffwechselendprodukten überschwemmt wird. Andere Funktionen sind die Speicherung und Vorhaltung von Energiesubstraten, die Ausscheidung von Abbauprodukten und Substanzen für die Verdauung sowie die Beteiligung an wichtigen immunologischen Prozessen. Eine kurze Übersicht ist in Tabelle 1 dargestellt.

Funktion	Beispiele
Synthese	Proteine, Gerinnungsfaktoren, Gallensalze
Homöostase	Glukose-, Protein-, Fettstoffwechsel
Entgiftung/ Filterung	Giftstoffe, Nährstoffe, Medikamente
Speicherung	Vitamine, Glykogen, Cholesterin, Fett
Ausscheidung	Bilirubin, Medikamente, Gallensalze
Immunologisches Organ	IgA, Kupferzellen

Tabelle 1. Funktionen der Leber

1.1 Was bedeutet Leberfunktion?

Die Bestimmung der aktuellen maximalen Leberfunktionskapazität ist in vielen klinischen Situationen, z.B. in der Leberchirurgie, Hepatologie und Intensivmedizin Voraussetzung für eine optimale Behandlung. Insbesondere zur Risikoeinschätzung vor und nach leberchirurgischen Eingriffen, in der Lebertransplantation aber auch zur Therapiesteuerung bei chronischen Lebererkrankungen sowie zum Monitoring und zur adaptierten medikamentösen Therapie in der Intensivmedizin hätte das Wissen um die aktuelle Leberfunktion immense Bedeutung.

Ein bisher ungelöstes Problem ist es, wie die Funktion der Leber zuverlässig quantifiziert werden kann. Hierzu ist es zunächst notwendig, sich darüber im Klaren zu sein, welche Funktion der Leber quantifiziert werden soll. In speziellen Situationen ist es denkbar, dass einzelne Partialfunktionen im Krankheitszustand separat eingeschränkt oder durch äußere Einflüsse wie z.B. Medikamente verändert sind. So können bestimmte Medikamente einzelne Enzymsysteme in der Leber induzieren oder inhibieren. Ebenfalls existieren für bestimmte Funktionen der Leber teilweise erhebliche genetische oder konstitutionelle Unterschiede, so dass zwischen verschiedenen Menschen einzelne Partialfunktionen unterschiedlich stark ausgeprägt sein können. Weiterhin besitzen die verschiedenen Funktionssysteme der Leber wie die meisten biologischen Systeme eine erhebliche Reservekapazität. Im klinischen Kontext ist in der Regel die Frage wichtig, wie gut die Leber insgesamt einschließlich der vorhandenen Reserven funktioniert, d.h. wie gut die *maximale Leberfunktionskapazität* ist. Aus den oben genannten Gründen muss daher als Grundvoraussetzung für einen zuverlässigen Leberfunktionstest ein für die Gesamtleber repräsentatives System der vielen Partialfunktionen gesucht werden.

Eine Vielzahl verschiedener Leberfunktionstests ist in der Literatur beschrieben worden (2-7). Bisher ist es aber mit keinem Testverfahren gelungen, zuverlässige und tatsächlich quantitative Aussagen zur Leberfunktion zu treffen (4, 5). In allen Verfahren konnte lediglich nur eine signifikante Differenzierung zwischen verschiedenen Krankheitsgruppen mit schon klinischer Symptomatik der Erkrankung erreicht werden (8). Da die bisherigen Tests in der derzeitigen Genauigkeit keinen zusätzlichen klinischen Nutzen bringen, wird in der klinischen Praxis praktisch kein Leberfunktionstest in der Routine-Diagnostik eingesetzt. Diese Tatsache wird durch die Anzahl der in der Literatur beschriebenen Leberfunktionstests deutlich. So wurden innerhalb der letzten 40 Jahre mehr als 20 verschiedene Ansätze zur Bestimmung der Leberfunktion publiziert (2). Selbst der in der Literatur am häufigsten beschriebene Indocyaningrün (ICG)-Test wird in der klinischen Routineanwendung kaum eingesetzt (5, 9). Hieraus ergibt sich einerseits, dass kein Testsystem den Durchbruch in die klinische Praxis geschafft hat, und andererseits, dass aber ein erheblicher klinischer Bedarf für eine quantitative Leberfunktionsmessung besteht.

1.2 Leberchirurgie und Leberfunktion

Leberteilresektionen werden hauptsächlich Aufgrund primärer oder sekundärer Lebertumore durchgeführt. Ziel einer solchen onkologischen Resektion ist die vollständige Entfernung des Tumors (R0-Resektion) sofern es möglich ist mit einem Sicherheitsabstand von über einem cm. Die Leberchirurgie bewegt sich deshalb häufig im Konfliktfeld zwischen radikaler Tumorentfernung und ausreichendem Restlebergewebe bzw. Restleberfunktion (10). Zusätzlich besteht bei einigen primären Lebertumoren wie dem hepatozellulärem Karzinom eine entsprechende Grunderkrankung (z.B. Hepatitis C), die eine erhebliche Lebervorschädigung bewirken kann. In so einem Falle ist die verminderte Leberfunktion mit zu beachten.

Die Leberchirurgie hat in den letzten Jahrzehnten erhebliche Fortschritte gemacht. Nachdem Lorat-Jacob und Robert 1952 über die erste anatomische Hemihepatektomie bei einem bösartigen Tumor berichteten, waren die klinischen Ergebnisse und die postoperative Mortalität in den folgenden Jahrzehnten noch sehr unbefriedigend (11). In einer Multicenter-Analyse aus dem Jahr 1977 wird bei 621 Leberteilresektionen noch über eine operative Mortalität von 13% insgesamt und von 20% bei größeren Resektionen (Hemihepatektomie oder erweiterte Hemihepatektomie) berichtet (12). Durch chirurgische, anaesthesiologische und intensivmedizinische Verbesserungen konnte die Mortalität und Morbidität reduziert werden (13, 14). Trotzdem ist die Rate an schweren Leberinsuffizienzen mit der entsprechenden Mortalität nach großen Leberteilresektionen („major hepatectomy“) und bei Lebervorschädigung (Zirrhose) nicht zu vernachlässigen und beträgt je nach Literaturquelle wenige Prozent bis hin zu 25% (15, 16). Nach großen leberchirurgischen Eingriffen ist die Leberinsuffizienz weiterhin die am meisten gefürchtete Komplikation überhaupt. Ein zusätzliches Problem besteht dann, wenn vor einer notwendigen Leberteilresektion das Lebergewebe bereits mehr oder weniger stark vorgeschädigt ist. Diese Vorschädigung erlaubt dann nur sparsame Leberteilresektionen. Da die Hauptindikation für eine Leberteilresektion ein maligner Tumor in der Leber ist (primär oder sekundär), ist folglich die onkologische Radikalität nicht mehr gegeben oder eine operative Therapie ist bei vertretbarem Risiko gar nicht mehr möglich. Die betroffenen Patienten könnten in solchen Situationen ggf. primär von anderen Therapieverfahren profitieren. Jedoch ist es bisher kaum genau möglich, eine Vorschädigung der Leber zu quantifizieren. Vielmehr ist die Leber lange in der Lage, Funktionsverluste zu kompensieren. Typischerweise fällt daher bei einer

bereits vollständig makro- und mikroskopisch sichtbaren Leberzirrhose im frühen Child-Pugh Stadium A nicht die geringste Veränderung im konventionellen Routinelabor auf (1). Da entsprechende Veränderungen auch in der Schnittbildgebung fehlen oder nur sehr diskret sein können, kommt es bei geplanten, großen Leberteilresektionen in einigen Fällen zu einem Abbruch des operativen Eingriffes mit teilweise ungünstigen Folgen für den Patienten.

Andererseits ist es unter Umständen möglich, dass onkologisch sinnvolle, chirurgische Eingriffe an der Leber nicht durchgeführt werden, weil eine zu starke Vorschädigung der Leber vermutet wird, beispielsweise bei einer lange bekannten Hepatitis C-Infektion. Hier ist es denkbar, dass in vielen Situationen die aktuelle Leberfunktionskapazität für den geplanten leberchirurgischen Eingriff aber noch ausgereicht hätte. Auch dann wäre der Patient nicht optimal behandelt worden.

Eine wichtige Rolle spielt ebenfalls die Überwachung der Leberregeneration nach leberchirurgischen Eingriffen. Hierdurch könnten Probleme in der postoperativen Phase schneller erkannt und entsprechend behandelt werden. Außerdem könnte es vor dem Hintergrund des zunehmenden Kostendrucks im Gesundheitswesen möglich sein, das Management des Patienten in der postoperativen Phase zu optimieren. Patienten mit guter Leberfunktion könnten frühzeitig auf eine Normalstation verlegt und kritische Patienten intensiver überwacht und frühzeitig therapiert werden.

1.3 Methodischer Hintergrund

Ein Ansatz, um dynamische *in vivo* Untersuchungen von Stoffwechselfvorgängen durchzuführen, ist der Einsatz von ^{13}C -markierten Testsubstanzen in Verbindung mit der Analyse von gebildeten $^{13}\text{CO}_2$ in der Ausatemluft (sogenannte ^{13}C -Atemtests). ^{13}C ist ein natürlich vorkommendes, nicht radioaktives und stabiles Isotop des ^{12}C (Kohlenstoff). Etwa ein hundertstel des natürlichen Kohlenstoffs liegt in der ^{13}C -Form vor. Durch die Nutzung von angereicherten ^{13}C -markierten Testsubstanzen ist es fast nicht-invasiv (nur die Testsubstanz muss verabreicht werden) möglich Untersuchungen durchzuführen, bei der ein Substrat in der Regel enzymatisch umgesetzt wird. Die Messung von $^{13}\text{CO}_2$ in der Ausatemluft ist sehr aufwendig, da $^{13}\text{CO}_2$ in etwa 100-mal niedrigerer Konzentration vorliegt als $^{12}\text{CO}_2$. Daher wurde bis vor etwa 10 Jahren das $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis in Atemgasproben mit entsprechend konfigurierten Massenspektrometern bestimmt. Diese großen und aufwendigen Geräte waren für die

klinische Praxis schon im regulären stationären Laborbetrieb ungeeignet und wurden deshalb nur in Universitäten oder großen Zentren eingesetzt. Die aktuell am weitesten verbreitete Methode zur $^{13}\text{CO}_2$ Konzentrationsbestimmung ist die Nichtdispersive Isotopenselektive Infrarotspektroskopie (NDIRS). Diese Geräte sind bei bisher ausreichender Genauigkeit schon wesentlich kompakter und auch gut für den Betrieb in kleineren Laboratorien oder Praxen geeignet. Die NDIRS-Methode ist sensitiv genug, um z.B. die relative $^{13}\text{CO}_2$ Konzentrationsänderungen in Atemgasproben von Patienten zu messen, zeigt aber stark abweichende und daher schwer verwertbare Ergebnisse bei unterschiedlichen Trägergasgemischen (z.B. O_2) (17, 18). Diese Methode ist relativ langsam, was eine zeitliche Auflösung des ^{13}C Stoffwechsels stark einschränkt, und misst methodisch bedingt auch nur das $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis. Hieraus lässt sich durch Einsatz von geschätzten Standardwerten für die $^{12}\text{CO}_2$ -Produktionsrate eines Standardpatienten die absolute Menge des abgeatmeten $^{13}\text{CO}_2$ pro Zeiteinheit errechnen. Wie die Massenspektrometer sind die NDIRS-Geräte für den stationären Einsatz zur Offline-Messung von einzelnen Atemgasproben konzipiert.

Da das Ziel dieser Arbeit die Entwicklung eines Verfahrens zum Einsatz am Patientenbett war, wird hier ebenfalls eine Methode entwickelt, um mit der vorhandenen NDIRS-Technik diese Aufgabe zu erfüllen.

2 Fragestellungen und Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, ein zuverlässiges und praktikables Verfahren für den klinischen Einsatz zu finden, das die Bestimmung der aktuellen maximalen Leberfunktionskapazität mit sofortigem Ergebnis am Patientenbett erlaubt. Dieses Verfahren soll gut verträglich und ubiquitär anwendbar sein.

Ausgehend von bekannten Ansätzen wurde ein komplett neu konzipiertes Verfahren, der LiMAx-Test (maximal liver function capacity based on ^{13}C -methacetin (MA) kinetics), basierend auf einer enzymkinetischen Ansatzweise entwickelt. Zusammen mit einer modifizierten NDIRS-Messtechnik kann mit diesem Verfahren direkt am Patientenbett gemessen werden. Folgende Fragestellungen sollten beantwortet werden:

- Was sind die Gründe für die unzuverlässige Leberfunktionsmessung mit dem oralen Methacetin-Atemtest?
- Welche Einflussfaktoren führen zu den unbefriedigenden Ergebnissen des Indocyaningrün-Tests?
- Sind die Online-Messungen mit der modifizierten NDIRS-Technik vergleichbar mit konventionellen Messungen?
- Wie wirkt sich der klinisch wichtige Einfluss von Sauerstoff auf die NDIRS-Messtechnik aus?
- Ist der LiMAx-Test wirklich spezifisch für die Bestimmung der Leberfunktion? Findet ein Substratumsatz in anderen Geweben als der Leber statt?
- Welchen Stellenwert hat der LiMAx-Test für die Vorhersage des postoperativen Leberversagens (Mortalität), der Entstehung einer Leberinsuffizienz und der Morbidität allgemein nach Leberteileresektionen?

3 Material und Methoden

3.1 Grundsätzliche Methodik von ^{13}C -Atemtesten

Das nicht-radioaktive Isotop ^{13}C Kohlenstoff(C) kommt im Vergleich zu ^{12}C in einem natürlichen Anteil von etwa 1,1% aller Kohlenstoffatome vor. Als internationaler Standard wurde das sogenannte Pee Dee belemite limestone (PDB)-Verhältnis von ^{13}C zu ^{12}C mit $R_{\text{PDB}} = 0,011237$ festgelegt (19, 20). Die entsprechenden Gesteinsproben aus dem Gebiet der Pee Dee-Formation in South Carolina enthalten gut reproduzierbar immer das gleiche $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis und eignen sich deshalb als Standard. Durch Anreicherung können definierte Substrate mit einer oder mehreren ^{13}C -markierten Gruppen hergestellt werden, deren Reinheit dann meistens mehr als 99% beträgt.

Die grundsätzliche Methodik von ^{13}C -Atemtests ist seit langem bekannt (21). Das Grundprinzip beruht auf dem enzymatischen Umsatz eines verabreichten ^{13}C -markierten Substrates zu einem Metabolit und $^{13}\text{CO}_2$ (Formel 1).



Hierbei sollte die zu untersuchende Funktion der geschwindigkeitsbestimmende Schritt im gesamten Umsatzprozess sein (22). Das entstehende $^{13}\text{CO}_2$ kann dann mit entsprechenden Analysetechniken in der Ausatemluft gemessen werden. Das ausgeatmete $^{13}\text{CO}_2$ ist dabei entweder Maß der Digestions- bzw. Absorptionsgeschwindigkeit, der Anwesenheit von Bakterien oder, wenn der geschwindigkeitsbestimmende Schritt in einer bestimmten Organelle liegt (z.B. Lebermikrosomen), direkt Maß für die Funktion dieser Organelle.

Der Durchbruch in die klinische Praxis gelang den ^{13}C -Atemtesten mit dem ^{13}C -Harnstoff-Atemtest zur nicht-invasiven Diagnostik einer *Helicobacter pylori*-Infektion des Magens (23). Bis heute ist dieser Test allerdings auch der Einzige, der in der klinischen Routine tatsächlich eingesetzt wird (7).

3.1.1 Messmethodik zur Bestimmung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses in der Ausatemluft

Die präzise Messung von $^{13}\text{CO}_2$ in Atemgasproben stellt wegen der geringen Konzentrationen an die Messmethodik hohe Anforderungen. Die Messung erfolgte bis vor etwa 15 Jahren ausschließlich durch eine sehr genaue jedoch teure und aufwendige

Technologie, die Isotopenmassenspektrometrie (isotope ratio mass spectrometer - IRMS) (24). Hohe Kosten, die aufwendige und anfällige Technik sowie das deshalb notwendige gut geschulte Personal begrenzten die Anwendung der ^{13}C -Atemteste. Anfang der neunziger Jahre wurde die neue sogenannte nichtdispersive isotopenselektive Infrarot-Spektroskopie (NDIRS) entwickelt, die eine deutlich billigere und praktikablere Messung bei guter Präzision erlaubt (24). Klinische Studien haben gezeigt, dass die gemessenen Werte im Vergleich zu IRMS gut übereinstimmen (25, 26). Durch die Einführung der NDIRS-Geräte haben ^{13}C -Atemteste in der Folge eine deutlich größere Verbreitung gefunden.

3.1.2 Funktionsweise des nichtdispersiven isotopenselektiven Infrarotspektrometers (NDIRS)

Für alle $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Messungen in dieser Arbeit wurde das NDIRS-Gerät FANci2db-16 (Fischer Analysen Instrumente, Leipzig) eingesetzt. Herzstück dieses Gerätes ist ein für die Isotopenanalyse modifizierter Analysator (URAS 10 der Fa. ABB, ehemals Hartmann & Braun, Frankfurt/Main), der seit vielen Jahren erfolgreich in der quantitativen Analyse von CO_2 und anderen Gasen in der Industrie eingesetzt wird. Die Infrarot (IR)-Spektroskopie wird seit langem zur quantitativen Bestimmung der Konzentration von bestimmten Gasen in Luft oder anderen Gasen benutzt. Dabei wurde lange Zeit die Absorption des Lichtes einer schmalbandigen Lichtquelle in einer Gas Mischung bei jeder Wellenlänge mit einem dispersiven Element (Gitter, Interferometer) gemessen (sog. konventionelle IR-Spektroskopie). Bei der nichtdispersiven Infrarot-Spektroskopie (NDIRS) wird auf dispersive Medien wie Gitter oder Prismen verzichtet und es werden eine breitbandige Lichtquelle und ein akustooptischer Detektor benutzt, der nur auf die Wellenlängen anspricht, bei denen das zu messende Gas absorbiert wird (24, 27). Der akustooptische Detektor besteht aus einer Gaszelle, angefüllt mit dem Gas, welches nachgewiesen werden soll, und einem Kondensatormikrophon. Ändert sich der Druck in der Gaszelle durch Erwärmung nach Absorption von Anteilen des Lichtes durch das Gas, so ändert sich die Kapazität des Kondensatormikrophons. Entscheidend ist dabei, dass nur die Wellenlängen zu Druckschwankungen führen, bei denen das Gas im Detektor absorbiert wird. Befindet sich in der Messzelle zwischen Lichtquelle und Detektor eine bestimmte Konzentration des Gases, mit dem der Detektor gefüllt ist, kann die Konzentration aus der Amplitude der Druckschwankungen in der Detektorzelle bestimmt werden. Die Amplitude der

Druckschwankungen ist proportional zur Transmission und umgekehrt proportional zur Gaskonzentration der Messzelle. Die Selektivität des Spektrometers wird also durch Füllung der Detektorzelle erreicht.

Die NDIRS zur Konzentrationsbestimmung von $^{13}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$ beruht darauf, dass die Absorptionsspektren bei 4,3 μm der asymmetrischen Streckschwingungs-Moden beider Moleküle fast vollständig getrennt sind (24, 27) und deshalb Interferenzen, die die Konzentrationsbestimmung beeinträchtigen könnten, von vornherein sehr klein sind. Um diese Interferenzen weiter zu reduzieren, werden je zwei Referenz- und Messgaszellen eingesetzt. Die präziseren NDIRS-Geräte besitzen zwei separate IR-Kanäle für $^{13}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$. In dem ersten IR-Kanal wird ein Messbereich von 0-500 ppm $^{13}\text{CO}_2$ und im zweiten IR-Kanal ein Messbereich von 0-5 Volumenprozent $^{12}\text{CO}_2$ erfasst. Um die Restempfindlichkeit zwischen $^{13}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$ zu verringern, wurde eine Filterzelle für den $^{13}\text{CO}_2$ -Kanal, die mit reinem $^{12}\text{CO}_2$ gefüllt ist, verwendet. Diese Filterzelle blockiert fast vollständig alle interferierenden Wellenlängen, die verbleibende Restquerempfindlichkeit wird durch mathematische Korrektur kompensiert. Durch eine Thermostatisierung auf 50°C und durch eine gasdichte Verpackung werden Messfehler durch Umgebungstemperaturschwankungen und Schwankungen in der CO_2 -Konzentration der Umgebungsluft vermieden. Die Kalibrierung erfolgt über eine für jeden Kanal vorhandene Kalibriereinheit, die aus einer selektiv mit Gas gefüllten Kalibrierküvette besteht. Für die Kalibrierung wird das Messgas durch Nullgas ersetzt und gleichzeitig die Kalibrierküvette elektromagnetisch in den Strahlengang geschoben. Das Nullpunktgas wird durch CO_2 -Absorption an Natronkalk aus der Umgebungsluft gewonnen. Durch Membranpumpen im Gerät werden Atemgasproben aus Atemgasbeuteln kontinuierlich durch die Messzellen beider Kanäle gepumpt.

An der Frontplatte des Gehäuses sind die Anschluss-Stutzen für die Atemgasbeutel angebracht (Abbildung 1). Die mit Atemgas gefüllten Beutel (maximal 16 Beutel) werden an die Schlauchstutzen in der Frontplatte des Gerätes angeschlossen. Jede Leitung, an die die Beutel angeschlossen sind, ist mit einem elektromagnetischen Ventil, das nur auf Anforderung durch die Steuerung öffnet, abgeschlossen. Die Atemluft aus dem Beutel wird durch eine Membranpumpe in die Messzellen für $^{13}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$ gefördert. Eine Beutelfüllung (ca. 300 ml) reicht in der Regel für zwei bis drei Bestimmungen des Isotopenverhältnisses.



Abbildung 1. NDIRS-Messgerät FANci2db16.

Für die später beschriebene, neu entwickelte Online-Messungen (3.7.4, Seite 30) wird die Ausatemluft direkt vom Patienten kontinuierlich durch die Pumpe bei offenen Ventilen in die Messkammer gefördert. Nur für die Phasen der Messwertaufnahme werden die Ventile geschlossen und der aktuelle Messkammerinhalt gemessen.

3.1.3 Berechnung von Atemtestergebnissen

Hier werden zunächst die konventionellen Verfahren zur Berechnung von Atemtestergebnissen dargestellt, wie sie in der Literatur aufgeführt sind. Das neu entwickelte LiMAX-Verfahren zur Berechnung der maximalen Leberfunktionskapazität wird in 3.9.2 (Seite 35) näher erläutert.

Gemessen wird zunächst immer das $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis R (ratio):

$$R = \frac{^{13}\text{CO}_2}{^{12}\text{CO}_2} \quad (2)$$

Dieses Verhältnis R_s der gemessenen Probe (sample) wird auf den PDB-Standard (s. 3.1) $R_{PDB} = 0,011237$ normiert und als Delta per mil ($\delta^\circ/\text{‰}$)-Wert dargestellt:

$$\delta_s = \frac{R_s - R_{PDB}}{R_{PDB}} \cdot 1000 \text{ [}^\circ/\text{‰]} \quad (3)$$

Die Anreicherung von ^{13}C während eines Atemtestes ist abhängig von der Dosis, dem ^{13}C -Anteil des verabreichten Substrates und von der Größe der CO_2 -Produktion. Im Allgemeinen führt die verabreichte Substratdosis zu einem maximalen Anstieg des ^{13}C -Anteils im CO_2 der Ausatemluft (R) um nur etwa 0,005-0,05 % (24).

Jeder Atemtest beginnt mit dem Entnehmen einer Atemprobe, um den Basalwert des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses im Atem der zu untersuchenden Person zu bestimmen. Während der Testzeit werden nach der ^{13}C -Substratapplikation in einem bestimmten Abstand Atemproben entnommen, um die Veränderungen zu bestimmen. In basalen Atemproben vor Verabreichung des ^{13}C -Substrates liegt der δ -Wert in Europa bei etwa -26 $^\circ/\text{‰}$, bei ^{13}C -Atemtests ist je nach Test ein Anstieg um 5-50 $^\circ/\text{‰}$ zu verzeichnen. Zur Darstellung der Rohdaten wird für jeden Messwert während des Testes der Anstieg des δ -Wert im Vergleich zum Basalwert als „**Delta over baseline**“ (DOB) berechnet:

$$DOB = \delta_s - \delta_{t=0} \text{ [}^\circ/\text{‰]} \quad (4)$$

Zur besseren Darstellung der umgesetzten Substanz kann die **prozentuale Wiederfindungsrate** (Dosis%/h) zu jedem Zeitpunkt berechnet werden (20):

$$Dosis\%/h = \frac{A}{B} \cdot 100 \text{ [%/h]} \quad (5)$$

Hierbei ist **A** die abgeatmete ^{13}C -Menge pro Zeit und **B** die verabreichte Netto-Menge an ^{13}C .

Die abgeatmete ^{13}C -Menge pro Zeit (**A**) lässt sich folgendermaßen berechnen:

$$A = (\delta_s - \delta_{t=0}) \cdot \frac{R_{PDB}}{1000} \cdot P \text{ [mmol/h]} \quad (6)$$

Hierbei ist P die abgeschätzte CO_2 -Produktionsrate der Person:

$$P = 300 \left[\frac{\text{mmol}}{\text{h} \cdot \text{m}^2} \right] \cdot BSA[\text{m}^2] \text{ [mmol/h]} \quad (7)$$

Hierbei ist BSA (body surface area) die Körperoberfläche der Person berechnet nach der Formel von Haycock et al. (28):

$$BSA = W^{0,5378} \cdot H^{0,3964} \cdot 0,024265 \text{ [m}^2\text{]} \quad (8)$$

Hierbei ist W das Körpergewicht in kg und H die Körpergröße in cm.

Der Term **B** der Formel 5 ist die eingesetzte ¹³C-Substrat-Nettodosis und berechnet sich folgendermaßen:

$$B = \frac{E}{100} \cdot \frac{m \cdot n}{M} \text{ [mmol]} \quad (9)$$

E ist die ¹³C-Reinheit des Substrates in %, m die eingesetzte Substratdosis in mg, n die Anzahl der ¹³C-Atome pro Molekül Substrat und M die Molmasse des Substrates.

Aus der prozentualen Wiederfindungsrate lässt sich für einen bestimmten Zeitraum die **kumulative Dosis** (CumDosis) berechnen:

$$CumDosis_i = \sum_i^{i=0} (Dosis\% / h_i + Dosis\% / h_{i+1}) / 2 \cdot \frac{(t_{i+1} - t_i)}{60} \text{ [%/h]} \quad (10)$$

Hierbei ist t_i die Zeit in Minuten, bis zu der von 0 min an beginnend die Kumulativdosis bestimmt wird.

3.2 Metabolisierung von ¹³C-Methacetin durch die Leber

Die Metabolisierung von Methacetin, ein Derivat des Phenacetins, erfolgt exklusiv in den Hepatozyten der Leber. Hier wird ¹³C-Methacetin im System der mikrosomalen Monooxygenasen spezifisch durch das Cytochrom p450 Isoenzym CYP 1A2 O-demethyliert und es entsteht Paracetamol und über sehr schnelle weitere Schritte ¹³CO₂ (Abbildung 2). Geschwindigkeitsbestimmender Schritt in dieser Reaktion ist das CYP 1A2 (29).

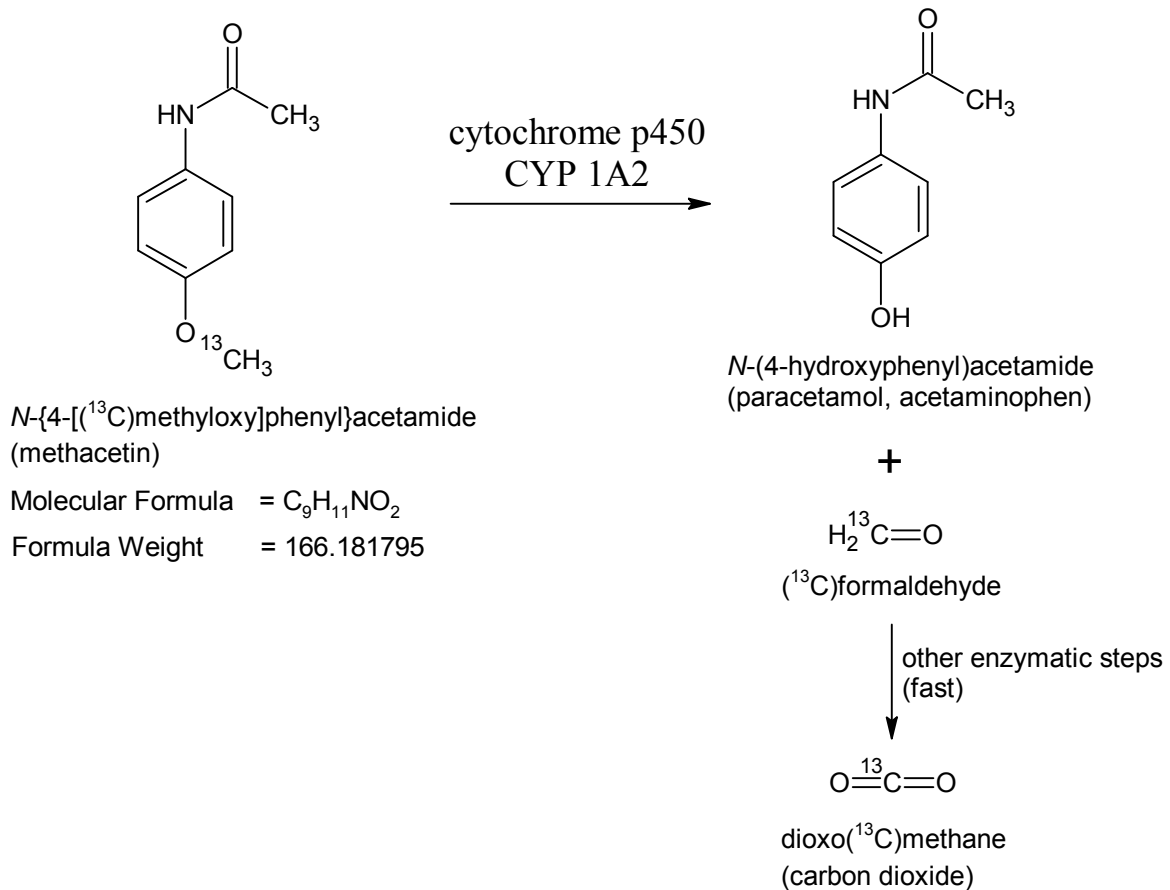


Abbildung 2. O-demethylierung von ^{13}C -Methacetin in der Leber durch das Cytochrom p450 Isoenzym CYP 1A2.

Das ^{13}C -Methacetin ist in bislang eingesetzten Dosierungen beim Menschen nicht toxisch und es wurden in zahlreichen Studien mit oral verabreichten Methacetin keinerlei Nebenwirkungen berichtet. Bereits 1941 wurde über eine sehr hohe lethale Dosis von 3 g/kg bei Kaninchen berichtet (30) und in einer weiteren Arbeit aus den 70er Jahren über eine LD50 von 1190 mg/kg bei Mäusen (31). Im Vergleich wurde in der letzteren Arbeit für das weltweit extrem häufig eingesetzte Paracetamol eine LD50 von 338 mg/kg angegeben. Zusammengefasst ist ^{13}C -Methacetin gut verträglich und es gibt bisher keine berichteten Nebenwirkungen bei einer Anwendung beim Menschen in den gebräuchlichen Dosierungen bis 5 mg/kg KG.

3.3 Vorversuche mit dem oralen ¹³C-Methacetin-Atemtest

3.3.1 Patientenkollektiv

Zwischen Dezember 2003 und Mai 2004 wurden insgesamt 12 Patienten eingeschlossen, die zu einer Leberteilresektion verschiedenen Ausmaßes geplant waren. Der Studieneinschluss erfolgte anhand folgender Ein- und Ausschlusskriterien:

Einschlusskriterien

1. Männliche oder weibliche Patienten denen ein Teil ihrer Leber als Trisektorektomie oder als Hemihepatektomie rechts oder links entfernt wird
2. Patientenalter 18-75 Jahre
3. Patienten, die ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie gegeben haben

Ausschlusskriterien

1. Patienten, die Lebertransplantiert wurden
2. Patienten mit einem porto-systemischen shunt
3. Patienten, bei denen sich der operative Eingriff nicht auf eine Trisektorektomie oder Hemihepatektomie beschränkt
4. Patienten mit einer schweren Infektionskrankheit oder mit Fieber >38,5°C
5. Jegliche Faktoren, die die Fähigkeit des Patienten einschränken, während der Studie zu kooperieren (z.B. mentale Funktion oder Drogenmißbrauch)

Eine Übersicht über die Patientencharakteristika gibt Tabelle 2.

Parameter	Median (Range) oder Anzahl (ggf. %)
Geschlecht (F / M)	9 / 3
Alter (Jahre)	66 (28 - 77)
BMI	23,8 (19,8 - 33,5)
Diagnosen:	
Kolorektale Lebermetastasen	2 (17%)
Klatskin-Tumor	4 (33%)
Hepatolzelluläres Karzinom	4 (33%)
Sonstige Metastasen	2 (17%)
Durchgeführte Operation:	
Hemihepatektomie rechts (incl. erweitert)	4 (33%)
Hemihepatektomie links ((incl. erweitert)	2 (17%)
Trisektorektomie rechts	5 (42%)
Atypische Leberteileresektion	1 (8%)

Tabelle 2. Vorversuche – Patientencharakteristika

BMI = Body mass index.

3.3.2 Studienablauf

Die Studie wurde prospektiv beobachtend durchgeführt. Nach einem vorgegebenen Studienprotokoll wurden ein oraler ^{13}C -Methacetin-Atemtest und konventionelle Laboruntersuchungen an folgenden Tagen durchgeführt: Präoperativ, postoperativer Tag (POD) 2, POD 3 und POD 10. Auf eine Durchführung des ^{13}C -Methacetin-Atemtests am POD 1 wurde wegen der möglichen postoperativen Darmparalyse mit Einschränkung der Transportfähigkeit für das oral verabreichte ^{13}C -Methacetin von vornherein verzichtet. Am POD 1 wurden aber konventionelle Laboruntersuchungen durchgeführt, um den Verlauf zu erfassen.

3.3.3 Durchführung des oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtests

Der orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest wird nach einer 10 stündigen Nahrungskarenz am nüchternen, liegenden Patienten durchgeführt. Vor Beginn geben die Probanden eine Atemgasprobe ihrer Ausatemluft in einen Atemgasbeutel ab, dann wird ihnen eine

Menge von 75 mg ^{13}C -Methacetin gelöst in 100ml Wasser oder Tee oral appliziert. Zunächst in 10 min Abständen, später in 20 min Abständen bis 120 min nach der Applikation von ^{13}C -Methacetin werden erneut Atemgasproben gewonnen. Die Atemgasproben werden in speziellen gasdichten Aluminiumbeuteln mit ca. 300ml Inhalt gesammelt und anschließend mit Hilfe eines isotopenselektiven nicht-dispersiven Infrarotspektrometers (NDIRS – vgl. 3.1.2) analysiert (8).

Dargestellt werden die Daten des Atemtests in „delta over baseline“ (DOB) zu den entsprechenden Zeitpunkten in $\delta \text{ } ^\circ/\text{ } ^\circ$ (siehe Formeln 2 - 4, Seite 10f).

Eingesetzt wurde der orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest vor allem zur nicht-invasiven Unterscheidung zwischen Patienten mit und ohne Leberzirrhose (8, 32-34). Aber auch zur Erforschung von möglichen Leberbeeinträchtigungen durch Medikamente (35) oder durch anderen Erkrankungen wie z.B. atopische Dermatitis (36) wurde er angewendet. Generell zeichnet sich der ^{13}C -Methacetin-Atemtest gegenüber anderen Testsubstanzen durch besonders schnelle Verstoffwechslung (37) und fehlende Toxizität in den gebrauchten Dosierungen aus (38). Bei Untersuchungen an Leberkranken korrelierte er besser mit dem Child-Pugh-Score als der MEGX- oder der ICG-Clearance-Wert dies taten (33). Ein Nachweis der individuellen Genauigkeit des oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtest konnte bislang allerdings nicht geführt werden.

3.4 Methodik des Indocyaningrün (ICG)-Tests

Der Indocyaningrün ist bereits seit den späten 50er Jahren des letzten Jahrhunderts bekannt und wurde anfangs für die Bestimmung des Herzzeitvolumens verwendet (39). Indocyaningrün ist eine inerte, anionische und gut wasserlösliche Substanz, die im Körper nicht metabolisiert wird. Indocyaningrün ist eine nicht toxische Substanz die nach der Injektion sofort und vollständig an Plasmaproteine, insbesondere Albumin und α 1-lipoprotein, bindet und sich aus diesem Grund nur intravasal verteilt. Für ICG sind bei der Anwendung am Menschen bis auf eine äußerst seltene allergische Reaktion keine Nebenwirkungen beschrieben. Es wird nahezu ausschließlich (97%) von der Leber unverändert in die Galle ausgeschieden. Nach intravenöser Injektion wird ICG selektiv durch einen Adenosintriphosphat (ATP) unabhängigen Transporter in die Leberzelle geschleust. Von hier erfolgt dann die unveränderte Ausscheidung über einen ATP-abhängigen Transport in die Galle (40-42). Durch die Messung der ICG-Clearance oder der ICG Plasmaverschwinderate (PDR) kann der Test Informationen über die

Leberfunktion liefern (9, 43-45). Speziell durch die nicht invasive sogenannte "pule dye densitometry" Methode ist eine einfache, fast kontinuierliche Messung der ICG-Konzentration im Blut möglich, was eine deutlich verbesserte Durchführung und Genauigkeit des Tests ergibt (46). Diese Methode wurde in den hier durchgeführten Studien und Experimenten angewendet und wird im Folgenden näher beschrieben.

Um eine genaue Messung zu erhalten, muss der Farbstoff Indocyaningrün im Bolus in die Blutbahn gelangen. Beim Menschen wird hierzu eine Venenverweilkanüle in eine cubitale Vene platziert. An die Kanüle wird eine Heidelbergerverlängerung, ein Dreiwegehahn, zwei Rückschlagventile, 20 ml Glukose 5% und die nach Körpergewicht berechnete Dosis Indocyaningrün angeschlossen (Abbildung 3).

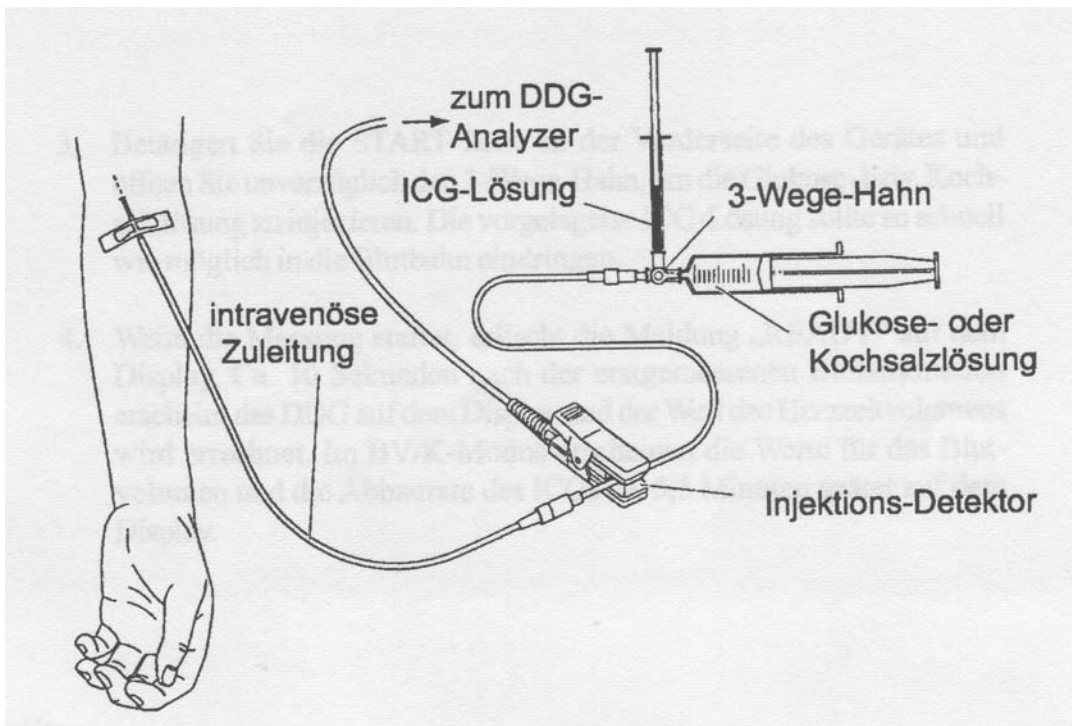


Abbildung 3. Injektions-Setup für den ICG-Test.

Die Glukoselösung dient zum schnellen und sofortigen Nachspülen nach der ICG-Injektion, damit der ICG-Bolus auch sicher sofort im zentralen Kompartiment landet. Da die Geschwindigkeit der Elimination von ICG aus dem Blut unter anderem dosisabhängig ist, empfehlen Paumgartner und Leevy eine Dosierung von 0,5mg /kg Körpergewicht pro Test (40, 47). Auch im Tierversuch bei der Ratte wurde die gleiche Dosierung verwendet (48). Bei der Ratte wird die Venenverweilkanüle in eine Schwanzvene platziert und direkt mit Insulinspritzen injiziert und nachgespült.

Zur kontinuierlichen nichtinvasiven Messung nach der „pulse dye densitometry“-Methode wurde das Gerät DDG2001K (Nihon Kohden, Tokyo, Japan) verwendet. Die Registrierung erfolgt über einen Fingerclip (DDG Analyzer Finger Probe TL-301P, Nihon Kohden, Japan) ähnlich der Pulsoximetrie, der beim Menschen am kontralateralen Finger und bei der Ratte am Hinterlauf platziert wurde. Das spektrophotometrische Messprinzip ist in Abbildung 4 dargestellt und beruht auf den unterschiedlichen Absorptionsbanden von ICG und Hämoglobin und dem pulsatilen Signal.

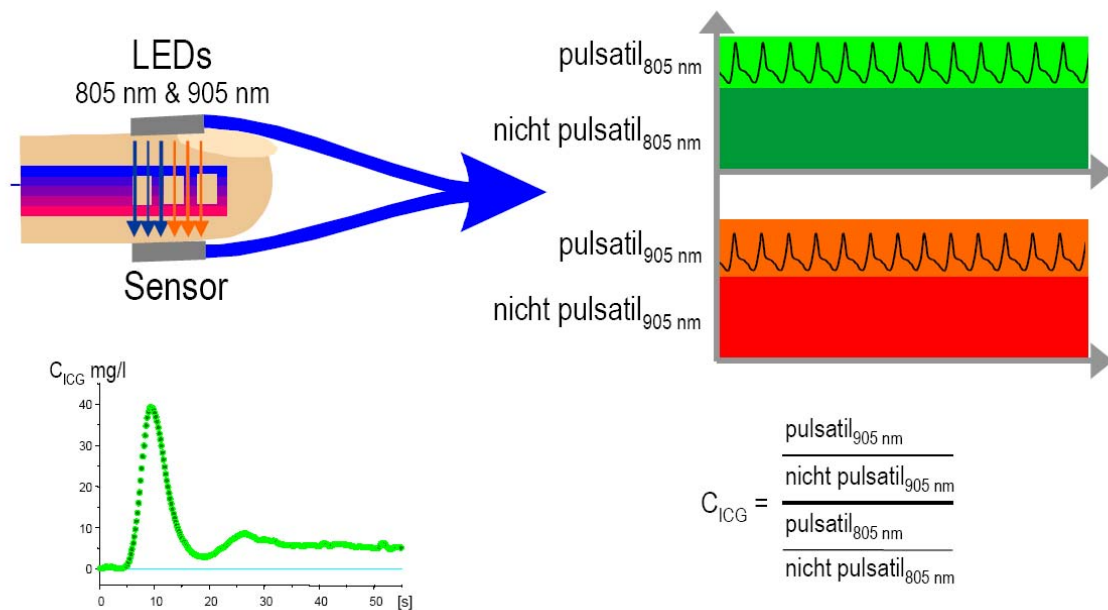


Abbildung 4. Indocyaningrün (ICG)-Test: Messprinzip des „pulse dye densitometry“-Verfahrens zur ICG-Bestimmung im Blut.

Analog zur Pulsoximetrie wird aus dem pulsatilen und nicht pulsatilen Anteil der Verwendeten Wellenlängen (805 nm für Indocyaningrün und 940 (905) nm im nahen Infrarotbereich als Referenz) das normalisierte Verhältnis der beiden transmittierten Intensitäten berechnet.

Über die Eingabe des Wertes für die Hämoglobinkonzentration (Hb), die direkt vor der Messung bestimmt wurde, kann dann sogar direkt auf die absolute ICG-Konzentration rückgeschlossen werden.

Nach Platzierung des Fingerclip sowie eines Injektionssensors, der den genauen Zeitpunkt der Injektion erfasst, und der Injektionssysteme werden die Patientendaten wie Größe, Gewicht und aktueller Hb sowie die ICG-Dosis eingegeben und die

Messung gestartet. Es erfolgt die Injektion des Farbstoffs als Bolus. Über den Fingerclip erfolgt die Messung des im Blut befindlichen Indocyaningrün. Nach sechs bis zehn Minuten wird das Ergebnis als Plasmaverschwinderate (PDR) angezeigt und auch graphisch dargestellt. Die Rohdaten wurden zusätzlich zur weiteren Nachbearbeitung über eine RS232 Schnittstelle an einen Computer übertragen.

Die ICG-Konzentration im Blut nimmt logarithmisch ab. Die Plasmaverschwinderate (PDR) wird über eine semilogarithmische Darstellung und Gradenanalyse berechnet und in der Einheit %/min oder 1/min dargestellt (Abbildung 5). Alternativ wird in der Literatur häufig die ICG-Retention bei 15 min nach Injektion (R15) in % wiedergegeben. Die PDR und der R15-Wert reflektieren die Elimination von ICG durch die Leber. Mehrere verschiedene Einflüsse auf diese Werte müssen aber beachtet werden, was in der Diskussion näher ausgeführt wird.

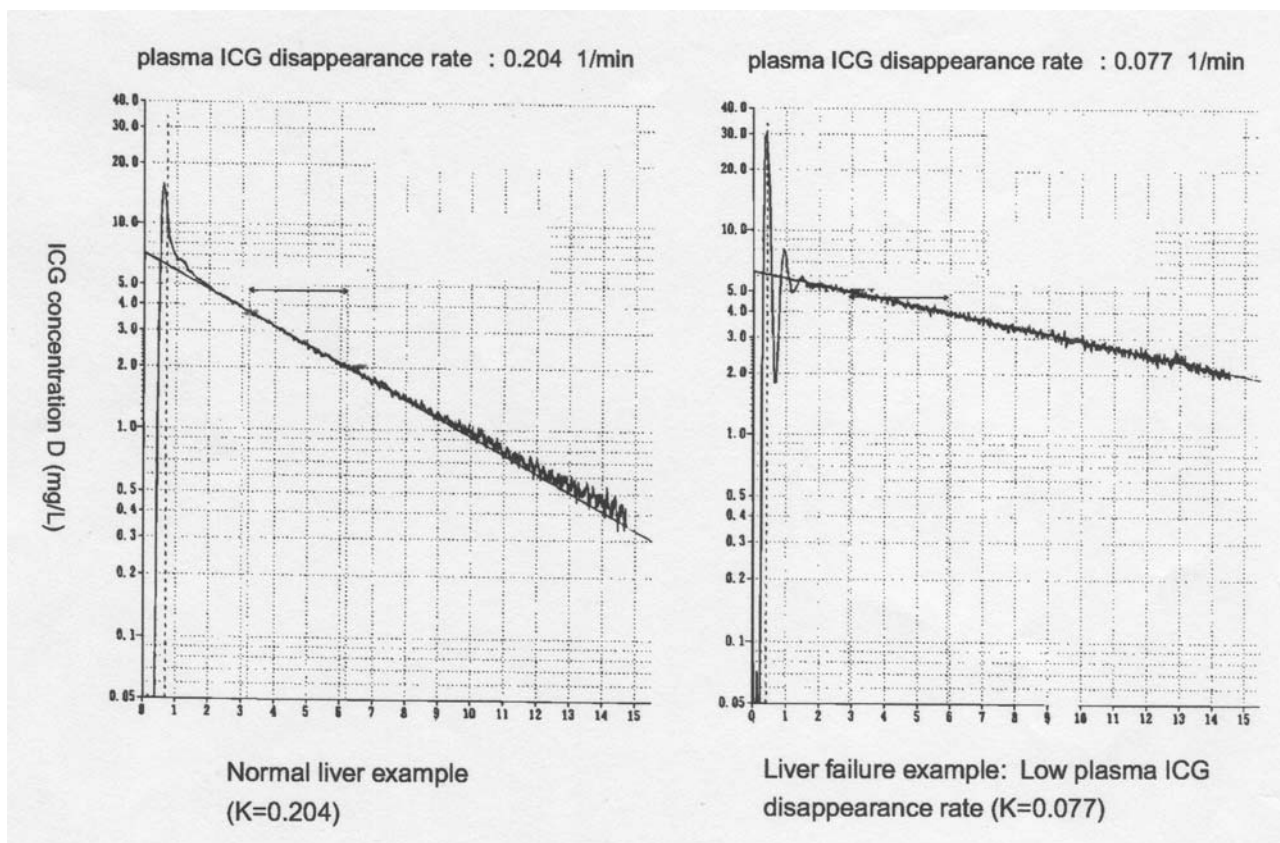


Abbildung 5 . Beispielhafte Originalregistrierungen eines ICG-Tests bei einer Normalperson (links) und bei Leberversagen (rechts).

Die ICG-PDR ist im linken Beispiel 20,4 %/min und im rechten Beispiel 7,7 %/min.

3.5 Einfluss einer akuten Cholestase auf den ICG-Test im Tiermodell

3.5.1 Versuchstiere

Für diese Versuchsserie wurden insgesamt 14 männliche Sprague Dawley Ratten (Winkelmann, Bochum, Germany) mit einem Gewicht von 200 - 300g verwendet. Die Tiere wurden in der zentralen Tierexperimentellen Einrichtung der Charité – Campus Virchow Klinikum gehalten und untersucht. Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser und Standard-Rattenfutter. Der Abstand zwischen Lieferung der Tiere und Versuch betrug mindestens eine Woche. Für die Experimente lag eine entsprechende Tierversuchsgenehmigung vor.

3.5.2 Versuchsablauf

Die Tiere wurden in 2 Versuchsgruppen (Kontrollgruppe „Sham“ und Gallengangsligatur „BDL“) zu je 7 Tieren randomisiert, allerdings verstarb ein Tier in der Sham-Gruppe bei der Narkoseeinleitung am ehesten an Herz-Kreislaufversagen. Die Betäubung und Narkose der Ratten erfolgte mit Isofluran, das auch über eine Maske während der Experimente weiter kontinuierlich verabreicht wurde. Die Dosis wurde so gewählt, dass die Tiere spontan atmen konnten.

Zunächst wurde für die Durchführung des ICG-Tests eine Venenverweilkanüle (27 Gauge, BD Venflon, Becton Dickinson, Sweden) in der Schwanzvene platziert und befestigt. Der Fingerclip-Messsensor des Pulse dye densitometers DDG2001K wurde am Hinterlauf der Ratte, der im Wesentlichen unbehaart ist, platziert und ein stabiles Ruhesignal abgewartet (Abbildung 6). Ohne Einsatz des Injektionssensors (manueller Start) erfolgte dann die Durchführung des ersten ICG-Test wie unter 3.4 beschrieben.



Abbildung 6. ICG-Test bei Ratten: Setup mit Kanüle in der Schwanzvene und Fingerclip-Sensor am Hinterlauf.

Es handelt sich hier bereits um eine postoperative Messung nach Verschluss des Abdomens.

Bei allen Ratten wurde nach Abschluss der präoperativen Messung eine mediane Laparotomie durchgeführt und das Ligamentum hepatoduodenale exponiert. In der BDL-Gruppe wurde nun das Lig. hepatoduodenale inzidiert und der vorne gelegene Gallengang präpariert und mit zwei Ligaturen (5/0 Vicryl) verschlossen (Abbildung 7). In der Sham-Gruppe wurde dagegen als Kontrollexperiment das Lig. hepatoduodenale nur inzidiert und der Gallengang präpariert, dieser aber nicht verschlossen.

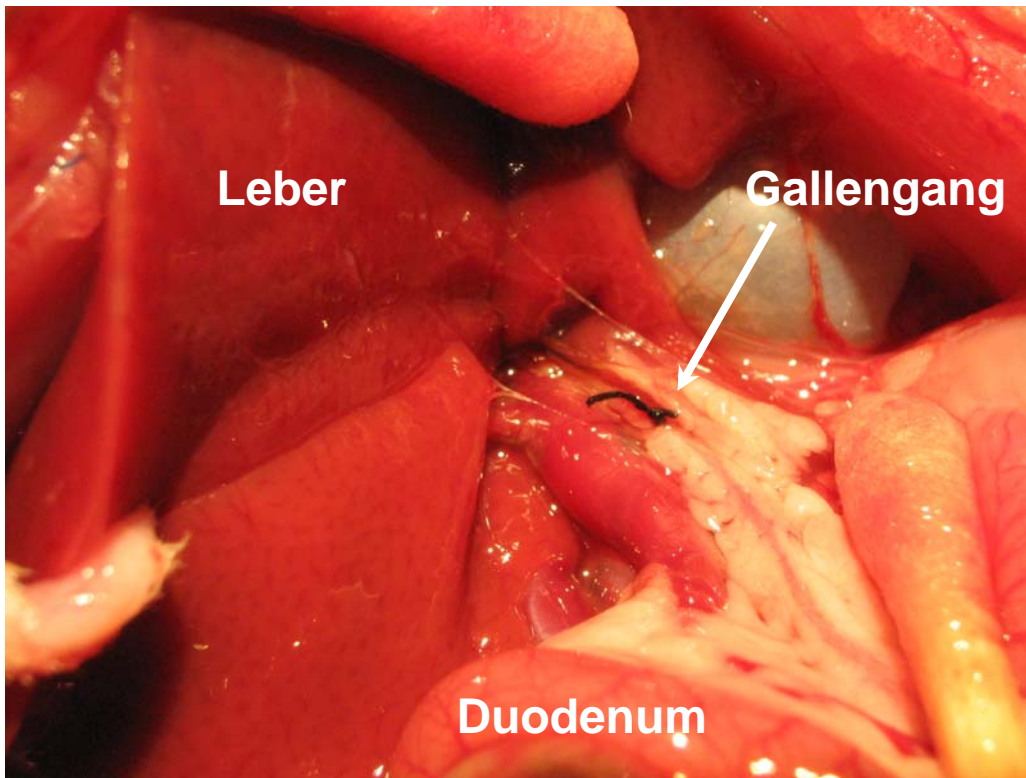


Abbildung 7. Ligatur des Gallengangs (*D. choledochus*) bei Ratten.

In der Bildmitte erkennt man den Gallengang mit Ligatur (Pfeil).

Das Abdomen wurde sodann zweilagig mit einer fortlaufenden 4/0 Vicral-Naht verschlossen. Im Anschluss wurden zwei weitere ICG-Tests nach 30 min und 60 min durchgeführt. Nach Abschluss der letzten Messung wurden die Ratten getötet und Lebergewebe in 4% Formalin und Heparin-Plasma für weitere Analysen gewonnen.

3.5.3 Histomorphologie und Laboruntersuchungen

Für die histomorphologischen Untersuchungen wurde das Lebergewebe in üblicher Weise in Paraffin eingebettet und in ca. 4 µm dicke Präparate geschnitten. Es erfolgte eine Färbung mit Hematoxylin and Eosin (HE) nach Routineprotokollen. Die Präparate wurden hinsichtlich der lobulären und hepatozellulären Architektur, Nekrosen, Entzündung und Cholestase beurteilt.

Im Heparin-Plasma wurden die Alaninaminotransferase (ALT) und das Bilirubin im Routine-Labor der Charité – Campus Virchow Klinikum bestimmt.

3.6 Einfluss von Sauerstoff auf die NDIRS-Messtechnik

Sauerstoff (O_2) wird in der klinischen Situation sehr häufig bei Patienten eingesetzt. Bei entsprechender Sauerstoff-Supplementation ersetzt O_2 einen Teil bis zu 100% (bei beatmeten Patienten) des sonst vorhandenen Trägergases Stickstoff (N_2). Um einen artifiziellen Effekt auf die Messmethodik der nichtdispersiven isotopenselektiven Infrarot-Spektroskopie (NDIRS) zu klären, wurde eine systematische Untersuchung bei Probanden durchgeführt.

Insgesamt wurden 26 gesunde Probanden untersucht (10 Frauen, 16 Männer). Das Alter betrug im Median 34 (interquartile range(IQR) 30-38) Jahre, der „body mass index“ (BMI) betrug im Median 23 (IQR 22-25) kg/m^2 . Alle Probanden wurden nach einer Nüchternperiode von mindestens 6 Stunden untersucht.

Von jedem Probanden wurden vor, direkt nach 5 min 100% Sauerstoffinhalation und nach weiteren 5 min erneuter Raumluftatmung Atemgasproben in 300 ml Atemgasbeutel aus Aluminium (Fischer Analyseninstrumente, Leipzig) gewonnen. Die Sauerstoffinhalation erfolgte über ein CPAP (continuous positive air pressure)-Maskensystem mit einem vorgeschalteten Reservoir-Beutel und einem PEEP (positive end expiratory pressure) von 1-2 cm H_2O . Hierdurch wurde die Einatmung von reinem Sauerstoff auch bei tiefen Atemzügen sichergestellt. Am Ende der Sauerstoffinhalation wurde nach der letzten Einatmung die Maske abgesetzt und nach Verwerfen der ersten Atemportion (Totraum) in einen Atemgasbeutel gepustet.

Die Atemgasproben wurden später mit dem NDIRS-Messgerät FANci2-db16 (Fischer Analyseninstrumente, Leipzig) wie unter 3.1.2 (S. 8) beschrieben analysiert. Die Auswertung und Berechnung erfolgte wie in 3.1.3, Formel 3 (S. 11) beschrieben.

3.7 Entwicklung einer Online-Messung mit der NDIRS-Technik

Die Analyse von ^{13}C -Atemtesten und dem dabei anfallenden $^{13}CO_2$ erfolgte bisher praktisch ausschließlich diskontinuierlich durch Messung von gesammelten Atemgasproben in stationären Analysegeräten im Labor (49, 50). Aufgrund der Größe und dem methodischen Aufwand war dies bei der Isotopenmassenspektrometrie (isotope ratio mass spectrometer - IRMS) nicht anders durchführbar. Aber auch die heute verfügbaren, wesentlich kleineren und preisgünstigeren Geräte, die mit der nichtdispersiven isotopenselektiven Infrarot-Spektroskopie (NDIRS) arbeiten, sind

ausschließlich für den stationären Einsatz zur Messung von Atemgasproben aus Atemgasbeuteln entwickelt worden.

3.7.1 Probleme der NDIRS-Geräte

Die NDIRS-Geräte sind allerdings schon deutlich kleiner, vergleichbar einem Computer-Towergehäuse, bei jedoch erheblichem Gewicht zwischen 20-30 kg. Hauptproblem bei dieser Geräteklasse ist die Messstabilität, die außer der methodischen Abhängigkeit von verschiedenen Trägergasen und der begrenzten generellen Genauigkeit zusätzlich von mehreren messtechnischen Faktoren abhängig ist:

1. Starke Temperaturabhängigkeit.

Die Geräte werden aus diesem Grund konstant bei einer Temperatur von $50,0 \pm 0,02$ °C gehalten.

2. Erschütterungsabhängigkeit.

Wegen der piezoelektrischen Messwertaufnahme (Mikrofon – vgl. 3.1.2) ist zumindest während der Messung eine deutliche Abhängigkeit von Erschütterungen gegeben.

3. Verfälschungen durch Wasserdampf.

Bei einer konventionellen Analyse der Atemgasprobe kommt es in der Regel im Atemgasbeutel aus Aluminium bereits zu einer Kondensierung des in der Ausatemluft gelösten Wasserdampfes an der Beutelwandung. Bei der späteren Analyse der Atemgasprobe gibt es dann keinen wesentlichen Einfluss mehr. Bei einer Online-Messung ist der Wasserdampf aber von Relevanz.

3.7.2 Gerätemodifikationen für eine Online-Messung

Um einen praktikablen Test zur Bestimmung der maximalen Leberfunktionskapazität zu entwickeln, war ein wesentliches Ziel dieser Arbeit, eine Online-Messung am Patientenbett zu entwickeln. Hierdurch kann die aufwendige und personalintensive Sammlung von Atemgasproben in Atemgasbeuteln entfallen und der notwendige Personaleinsatz während der Messung wird deutlich reduziert. Außerdem sollten zur kinetischen Analyse möglichst viele Datenpunkte pro Zeiteinheit gewonnen werden und die zeitliche Zuordnung genau sein, was nur durch eine Online-Messung erreicht werden kann. Logische Folge einer Online-Messung mit Online-Analyse der

Atemproben ist weiterhin, dass das Ergebnis der Messung sofort nach deren Ende vorliegt.

Zur Entwicklung der Online-Messmethodik wurde als Ausgangsgerät das bereits oben erwähnte NDIRS-Analysegerät FANci2-db16 (Fischer Analyseninstrumente, Leipzig) verwendet. Die grundsätzliche Funktionsweise ist unter 3.1.2 (S. 8) beschrieben.

Zunächst war es notwendig, in der Software-Ansteuerung des Gerätes entsprechende Anpassungen vorzunehmen. Eine aktuelle Software-Version der Firma Fischer Analyseninstrumente (Software Version FANci 2.07) erlaubt im Expertenmodus die Einstellung eines Messverfahrens, in dem an einem Anschluss des Gerätes durch die integrierte Pumpe kontinuierlich Gas eingesaugt wird. In programmierbaren Abständen wird dann das Einlassventil geschlossen und die aktuell in der Messkammer befindliche Probe in Geräte-spezifischer Weise gemessen. Durch entsprechende weitere Einstellungen im System-Bereich wurden die Parameter Spülzyklen (geändert von 3 auf 2), Stabilisierungszeit (geändert von 35.000 auf 20.000) und Korrekturzeit (geändert von 600 auf 300) so verändert, dass etwa alle 70 – 90 sec eine Messung erreicht werden konnte. Somit waren von der Geräteansteuerung die Voraussetzungen für eine Online-Messung erreicht. Um allerdings einen transportablen Mess-Aufbau für die Messung am Patientenbett zu erreichen, mussten weiterhin die oben genannten Probleme der messtechnischen Faktoren gelöst werden:

1. Durch die starke Temperaturabhängigkeit der Messung ist es notwendig, dass das Messgerät konstant bei einer sehr stabilen Temperatur arbeitet. Nach einem kompletten Ausschalten des Gerätes dauert es mehrere Stunden bis zu einem Tag bis der Gerät überhaupt wieder messen kann und die notwendige Stabilität erreicht ist. Für einen transportablen Mess-Aufbau wurde daher eine unabhängige Stromversorgung (USV) mit einem automatisch arbeitenden Akku dem Messgerät vorgeschaltet, damit auch während der Transportzeiten das Messgerät weiter arbeitet und nicht abkühlt. Diese USV wurde so gewählt, dass Zeiten bis zu 45 min ohne feste Stromversorgung überbrückt werden konnten.

2. Während der Messungen musste das Gerät auch am Patientenbett ruhig stehen. Um den möglichen Einfluss von Erschütterungen während der Fahrt auf die spätere Messung auszuschließen wurden Vergleichsmessungen zu konventionellen Beutel-Messungen vorgenommen (3.8 und 4.4).

3. Da bei der Online-Messung wie oben dargestellt kontinuierlich Atemgas direkt vom Patienten (s.u.) in das Gerät angesaugt wird, würde auch eine erhebliche Menge Wasserdampf in die Messkammer geraten. Da dies zu Interferenzen mit der Messung führt, wurde vor den Einlass-Anschluss des FANci2-db16-Gerätes ein spezieller Wasserdampfaustauscher geschaltet. Dieser Wasserdampfaustauscher basiert auf einer Nafion[®]-Membran, die selektiv nur für Wasserdampf durchlässig ist. Der speziell konfektionierte Wasserdampfaustauscher ME-110-03-37 (Perma Pure Inc., Toms River, New Jersey, USA) ist vom Durchmesser und der möglichen Durchflussrate so beschaffen, dass 1. kein wesentlicher Widerstand entsteht und 2. über die Austauschstrecke in jedem Fall eine vollständige Äquilibrierung des Wasserdampfgehaltes mit der Umgebungsluft stattfindet.

Der gesamte Geräte Aufbau war bedingt durch sein Gewicht (insgesamt ca. 40kg) und Sperrigkeit zwar nicht mehr tragbar, aber auf einem kompakten Wagen problemlos fahrbar (Abbildung 8).



Abbildung 8. Messgeräte-Aufbau auf fahrbarem Wagen.

NDIRS-Analysator inklusive Wasserdampfaustauscher (WT), Unabhängige Stromversorgung (USV), Steuerungs-Computer und Befunddrucker sowie Zubehör.

3.7.3 Entwicklung einer Atemmaske zur Separation der Ausatemluft

Zur Online-Messung ist es notwendig, die Ausatemluft kontinuierlich von der Einatemluft zu separieren, um sie in das Analyse-Gerät zu leiten. Nur durch eine zuverlässige Trennung wird weiterhin erreicht, dass ausreichend hohe Gesamt-CO₂-Konzentrationen für die zuverlässige Atemgasanalyse erreicht werden. Dazu wurde eine spezielle Atemmaske entwickelt, die folgende Kriterien erfüllt:

1. Durch einen dichten Sitz der Atemmaske soll die sichere Separierung des Atemgasstromes und verlustfreie Abtrennung der Ausatemluft in den Ausatemschenkel der Maske erreicht werden. Dies wird in der entwickelten Maske durch ein anpassbares Luftkissen erreicht, das als Abschluss der Maske dem Gesicht anliegt. Weiterhin sind verschiedene Größen der Maske verfügbar. Dadurch ist die optimale Anpassung mit zuverlässiger Abdichtung bei verschiedensten Gesichtsformen möglich.
2. Das zusätzliche Totraumvolumen sollte möglichst klein sein, um eine Beeinflussung der Atmung zu verhindern und eine möglichst alveolennahe Trennung des Atemstromes zu erreichen. Durch die entsprechende Wahl der Maskenform ist der zusätzliche Totraum sehr gering. Das gemessene Maskenvolumen betrug max. 130 ml (große Maske) bzw. max. 100 ml (mittlere Maske) abzüglich hereinragender Nasen- und Mundpartien.
3. Der Atemwiderstand sollte sowohl bei der Ein- wie Ausatmung möglichst gering sein. Hierzu wurden zwei Einatemventile und ein Ausatemventil mit großem Querschnitt basierend auf einer Silikonmembran mit extremer Leichtgängigkeit direkt in die Maske integriert (Abbildung 9). Somit wird bei der Einatmung praktisch ein unbeeinflusster Atemstrom garantiert, bei der Ausatmung kommt es nur zu einer allenfalls minimalen Erhöhung des Atemwegswiderstands.

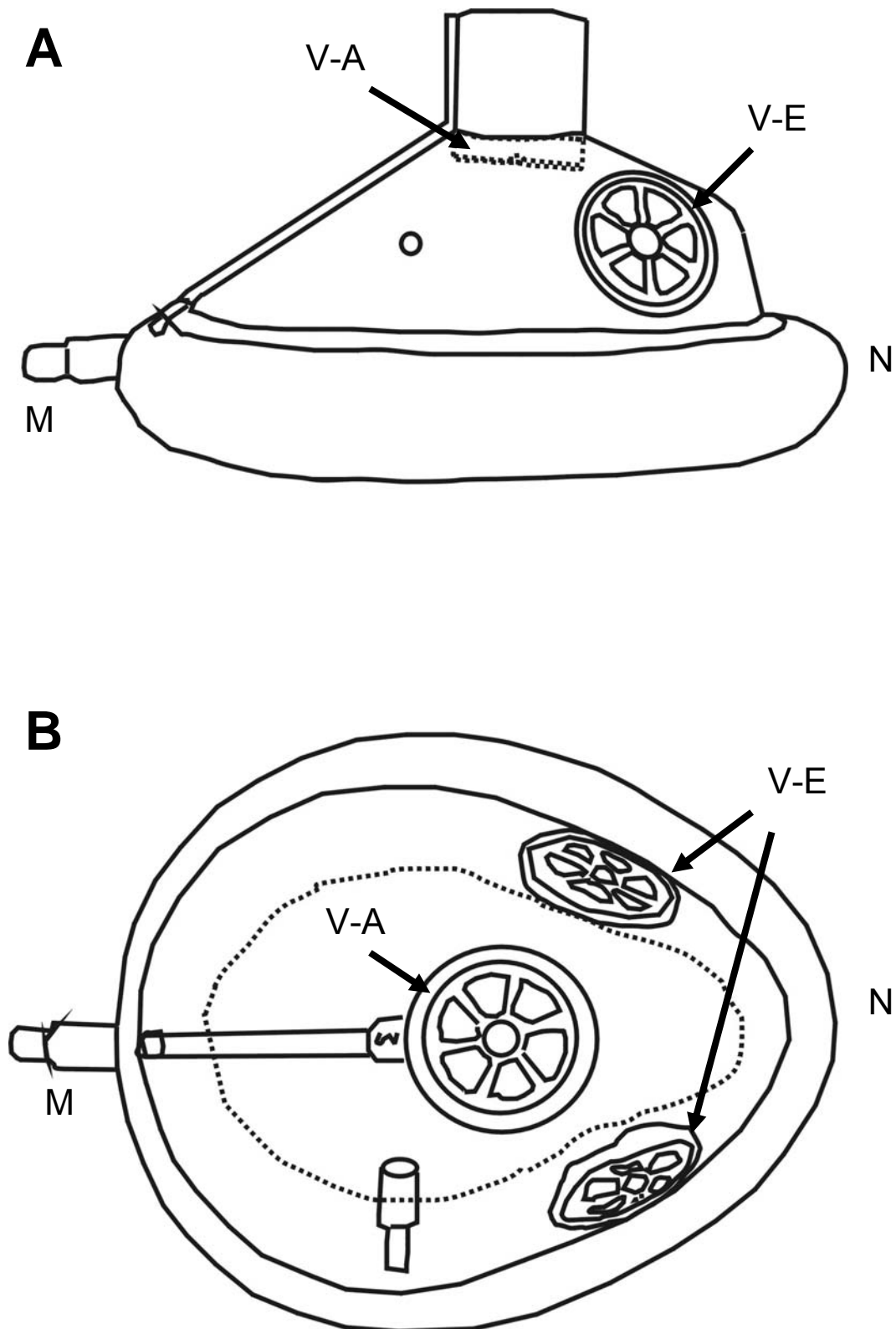


Abbildung 9. Neu entwickelte Atemmaske zur Online-Messung.

A. Seitliche Ansicht; B. Ansicht von vorne. N = Naseseitiges Ende, M = Mundseitiges Ende, V-E = Einatemventile. V-A = Ausatemventile.

3.7.4 Gesamtaufbau für die Online-Messung

Den Gesamtaufbau für die Online-Messung zeigt schematisch die Abbildung 10. Zusammengefasst wurde so eine stabile, transportable (fahrbare) Messanordnung konstruiert, die eine ausreichend zuverlässige Online-Messung erlaubte. Die Evaluierung dieses Messaufbaus wurde im Vergleich zu konventionellen Beutelmessungen vorgenommen (Methodik 3.8, Ergebnisse 4.4).

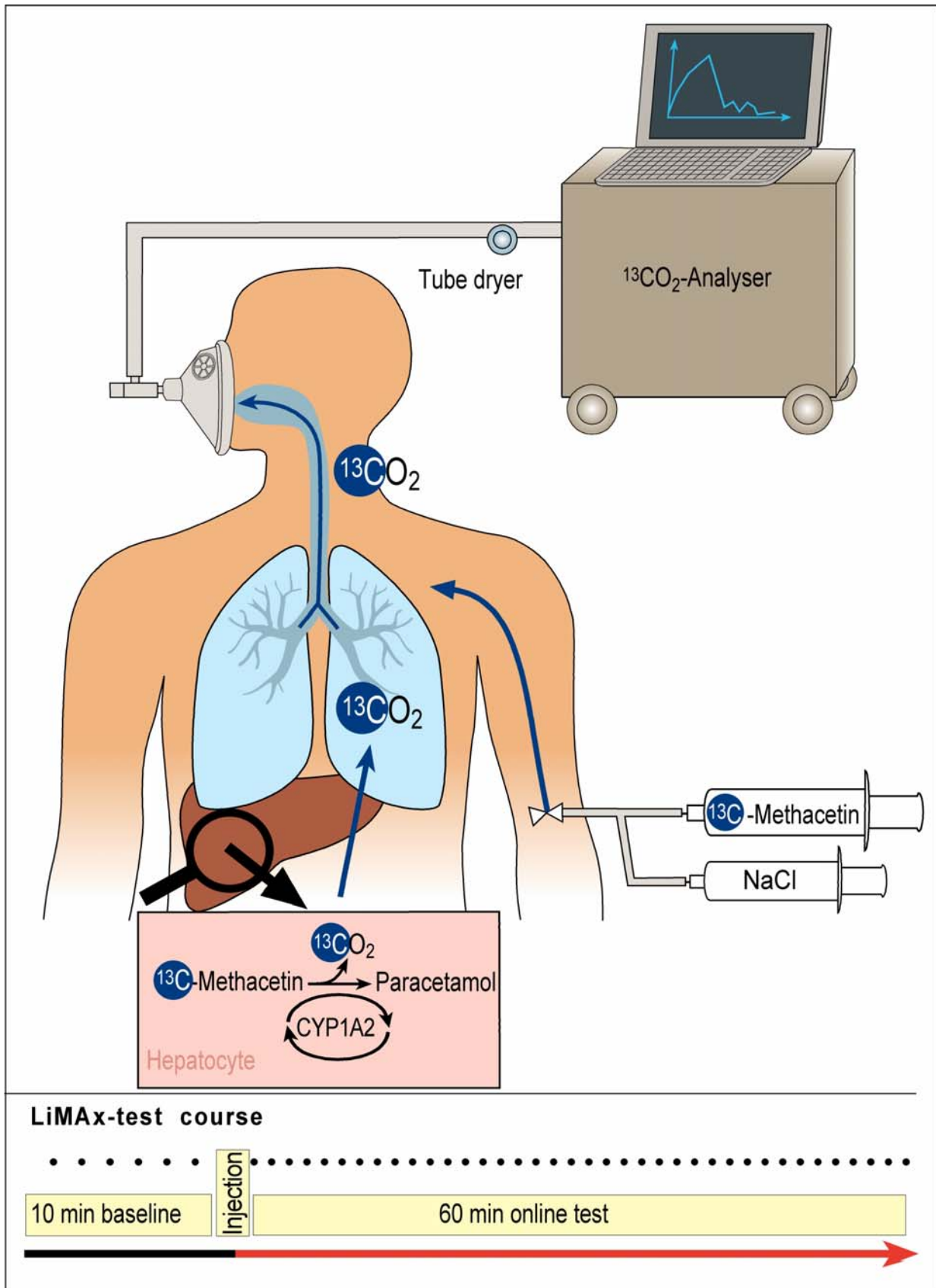


Abbildung 10. Schematischer Gesamtaufbau für die Online-Messung.

Tube dryer = Wasserdampfaustauscher.

3.8 Vergleichbarkeit zwischen Online- und konventionellen Beutel-Messungen

Um die direkte Vergleichbarkeit von neuer Online-Messung und konventioneller Beutelmessung nachzuweisen, wurden zwei Arten von Vergleichsmessungen durchgeführt.

1. Bei 3 gesunden Probanden wurde während einer Onlinemessung gleichzeitig Atemgas auf konventionelle Weise in Atemgasbeutel gewonnen, wie unter 3.3.3 beschrieben. Die Atemgasbeutel wurden zu den Zeitpunkten 2 ½, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120 min gewonnen. Um eine Störung der Online-Messung zu vermeiden, wurde immer genau der Moment abgepasst, in dem Gas Analysegerät die Einlassventile zur Messung der aktuellen Online-Probe geschlossen hatten. An diesem Punkt wurde dann die Atemmaske für kurze Zeit abgesetzt und ein Atemgasbeutel aufgepustet.

2. Bei jeder Online Messung wurde vor Beginn und nach dem letzten Online-Messpunkt ein Atemgasbeutel aufgepustet. Dadurch konnte bei jeder Messung die Vergleichbarkeit des letzten Online-Messpunktes überprüft werden.

3.9 Entwicklung, Durchführung und Berechnung des LiMAx-Testes

Wie später im Ergebnisteil unter 4.1 beschrieben, ist der orale ¹³C-Methacetin-Atemtest in der perioperativen Phase nicht zuverlässig einsetzbar und ergibt keine zuverlässigen und verwertbaren Ergebnisse. Mit diesem Hintergrund wurde die mögliche Durchführung und Berechnung eines geeigneten universellen Tests zur Bestimmung der aktuellen maximalen Leberfunktionskapazität prinzipiell neu durchdacht und konzipiert. Ergebnis ist der sogenannte LiMAx-Test (maximal liver function capacity based on ¹³C-methacetin (MA) kinetics), der sich methodisch komplett vom bisher bekannten oralem ¹³C-Methacetin-Atemtest unterscheidet.

3.9.1 Durchführung des LiMAx-Testes

Voraussetzung für eine Analyse nach einer enzymkinetischen Betrachtungsweise ist die schnelle und sofortige Substratanflutung am zu untersuchenden Enzym, in diesem Falle CYP1A2 (siehe auch 3.2). Hierzu wurde ¹³C-Methacetin intravenös im Bolus in einer Dosierung von 2 mg/kg KG injiziert. Da Methacetin sehr schwer in Wasser löslich ist, musste eine stabile Zubereitung gefunden werden.

3.9.1.1 ¹³C-Methacetin-Lösung

Weder eine orale noch eine intravenöse ¹³C-Methacetin-Lösung sind als Fertigarzneimittel verfügbar. Alle Lösungen wurden daher durch die Apotheke der Charité – Campus Virchow Klinikum im Haus steril und pyrogenfrei zubereitet und entsprechend getestet. Um Partikelfreiheit zu erreichen wurde stets ein 5 µm Partikelfilter eingesetzt, der auch mögliche gebildete ¹³C-Methacetin-Kristalle zurückhalten konnte.

Um eine praktikable Durchführung des LiMAx-Testes zu erreichen, war es notwendig, dass ¹³C-Methacetin zumindest in einer Konzentration von 0,4 % (4 mg/ml) zuzubereiten. Somit ist es möglich bei Patienten bis 100 kg KG mit einer einzigen 50ml Perfusorspritze zu arbeiten, die dann 200 mg ¹³C-Methacetin enthält. Erst bei Pat. über diesem Gewicht muss mit einer zusätzlichen Spritze gearbeitet werden.

Bei einer Konzentration von 0,4 % ist ¹³C-Methacetin bei Lösung in H₂O unter Erwärmung auf ca. 40-50°C vollständig löslich und bildet eine klare, farblose Lösung. Es zeigt sich allerdings nach relativ kurzer Zeit von 1-2 Wochen bei Raumtemperatur, dass die Substanz zumindest teilweise wieder auskristallisiert. Bei Kühlung der Lösung geschieht dies sogar bereits nach wenigen Tagen. Bei erneuter Erwärmung im Wasserbad bei 40-50°C konnten die Kristalle zwar wieder in Lösung gebracht und eine klare Lösung erreicht werden, dieses Vorgehen war jedoch wenig praktikabel.

Aus diesem Grunde wurden Versuchsreihen mit unterschiedlichen Lösungsvermittlern wie Glycerol, Tween 20, Tween 80 und Propylenglycol angesetzt und die Kristallisation bei Kühlung auf 8°C beobachtet. Am günstigsten zeigten sich hier die Ergebnisse mit Propylenglycol (Propan-1,2-diol), weshalb dieser Lösungsvermittler im weiteren verwendet wurde. Die benutzte Konzentration betrug 3% (30 mg/ml). Propylenglycol ist bei regulär verwendeten Konzentrationen nicht toxisch, die LD50 beträgt bei der Ratte 26,38 g/kg. Allerdings gibt es Berichte über eine Laktatazidose bei kontinuierlich verabreichten Propylenglycol-haltigen Lösungen (z.B. Lorazepam) mit extrem hohen Tagesdosierungen (51, 52). Hierbei betragen die mittleren Tagesdosen an Propylenglycol allerdings 1219 mg/kg pro Tag (51). Aufgrund der standardmäßig verwendeten Dosierung von 2 mg/kg ¹³C-Methacetin und der Konzentration von 4 mg/ml werden 15 mg/kg Propylenglycol pro Test injiziert, was etwa um den Faktor 100 geringer ist als die beschriebenen problematischen Konzentrationen.

Weiterhin zeigte sich bei weiterem Studium der Kristallstruktur, dass die sich bildenden Kristalle auch von polaren Gruppen und damit auch pH-abhängig sein könnten (53). Weitere Versuchsreihen mit unterschiedlichen pH-Werten im noch für die Injektion verträglichen Bereich, ergaben besonders stabile Verhältnisse bei leicht basischen pH-Werten.

Als günstiger Lösungsansatz wurde daher folgende Zusammensetzung für 50 ml gewählt:

¹³ C-Methacetin	200 mg
Propylenglycol	1500 mg
H ₂ O	ad 50 ml

pH-Einstellung mit NaOH auf einen pH von 8,2 – 8,5.

Diese Formulierung zeigte als sterilisierte und pyrogenfreie intravenöse Zubereitung bei Raumtemperatur (20°C) auch über ein Jahr keine sichtbare Kristallbildung mehr.

3.9.1.2 Testdurchführung

Zur Vergleichsmessung wurde vor Beginn der Online-Messung ein Atemgasbeutel aufgeblasen, ebenso direkt nach Ende der Messung (vgl. 3.8). Der nüchterne Patient wurde ausschließlich liegend untersucht, um konstante hämodynamische Bedingungen zu erzielen. In eine große Vene möglichst in der Ellenbeuge wurde eine Venenverweilkanüle (18 GA oder 20 GA) platziert und entsprechende Blutabnahmen für die Studienuntersuchungen abgenommen. Nun wurde die Atemmaske dicht aufgesetzt und die Online-Messung mit dem modifizierten NDIRS-Gerät (3.7) gestartet. In den ersten 10 min wurden insgesamt 5 Basalwerte akquiriert.

Über die liegende Venenverweilkanüle erfolgte dann die Injektion der entsprechenden ¹³C-Methacetin-Menge (2 mg/kg KG) im Bolus über max. 1 min und sofort hinterher mindestens 20 ml NaCl, die schon vorbereitet mit dem ¹³C-Methacetin an einem 3-Wegehahn angesteckt waren, um die Substanz in das zentrale Kompartiment zu spülen.

Nach Injektion wurde weitere 60 min online gemessen, wobei 40 Messwerte aufgezeichnet wurden. Die ersten 20 min wurde minütlich gemessen, danach 2-minütlich. Die gesamte Messung nach Injektion erfolgte automatisiert und erforderte keinerlei Eingriff.

3.9.2 Berechnung des LiMAx-Wertes

Der Datenexport der Rohdaten aus dem FANci-Messprogramm erfolgte mit neu erstellten Makros direkt in selbst programmierte Excel-Tabellen, in denen die weitere Berechnung und graphische Darstellung erfolgte. Im Folgenden werden die Berechnungen genauer beschrieben.

Zur weiteren Analyse der Daten wurde eine enzymkinetische Betrachtungsweise des Substratumsatzes (¹³C-Methacetin) am CYP1A2 zu Grunde gelegt. Die enzymatischen Schritte sind bereits in 3.2 genauer dargestellt (vgl. auch Abbildung 2, Seite 13). Nach intravenöser Bolus-Injektion von ¹³C-Methacetin kommt es zu einer schnellen und hochdosierten Substratanflutung.

Bei schlechter Leberfunktionskapazität kann hierdurch eine Sättigung des CYP1A2-Enzymsystems erreicht werden und entsprechend einer Enzymkinetik nullter Ordnung ist dann durch Analyse der maximal möglichen Umsatzrate des Enzyms ein Rückschluss auf die Enzymmenge, die in diesem Fall repräsentativ für die gesamte Leberfunktionskapazität ist, möglich. Die Abatmung von ¹³CO₂ repräsentiert hier direkt die Metabolitentstehung am Enzym und an Stelle der maximalen ¹³CO₂-Entstehung entspricht die abgeatmete ¹³CO₂-Menge pro Zeiteinheit der Umsatzrate am Enzym. Dies trifft natürlich nur unter der vereinfachenden Annahme zu, dass keine wesentlichen geschwindigkeitsbestimmenden Schritte und Kompartimente nachgeschaltet sind, was aber vernachlässigbar erscheint.

Bei guter Leberfunktionskapazität ist die Situation etwas schwieriger. Hier kann nicht von einer Sättigung des Enzyms ausgegangen werden. Nichtsdestotrotz kann am Punkt der maximalen ¹³CO₂-Ausatmung davon ausgegangen werden, dass hier der Punkt der bei der verabreichten Dosis höchst möglichen Umsatzrate am CYP1A2-Enzym erreicht wird. Der erhaltene Wert der Umsatzrate am Enzym besagt dann, dass die maximale Leberfunktionskapazität größer oder gleich als der gemessene Wert ist.

Zur Berechnung der Umsatzrate wird das ¹³CO₂/¹²CO₂-Verhältnis (R_{tmax}) am zu bestimmenden Maximalpunkt der ¹³CO₂-Ausatmung und vor Injektion des ¹³C-Methacetins (R_{t0}) benutzt (siehe 3.1.3, Formel 2, Seite 10). Die Berechnung des LiMAx-Wertes erfolgt dann nach folgender Formel:

$$LiMAx = \frac{(R_{tmax} - R_{t0}) \cdot 1000 \cdot P \cdot M}{KG} \quad [\mu g/h/kg] \quad (11)$$

Hierbei wird die Differenz der $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisse vor und am Maximalpunkt nach ^{13}C -Methacetin-Injektion mit der CO_2 -Produktionsrate (P , $300 \text{ mmol/h} \cdot \text{Körperoberfläche in m}^2$) multipliziert, wodurch das zusätzlich gebildete $^{13}\text{CO}_2$ in mmol resultiert. Durch Multiplikation mit Molekulargewicht des Substrats ^{13}C -Methacetin (M) kann die Umsatzrate pro Zeit am Enzym berechnet werden, die auf das Körpergewicht des Individuums (KG) in kg normiert wird. Diese Berechnung ist zunächst völlig unabhängig von der applizierten Substanzmenge, natürlich hat diese aber wie oben beschrieben einen Einfluss auf die maximal auslastbare Enzymmenge. Klar ersichtlich wird aber, dass entscheidend für die Genauigkeit der Berechnung die Genauigkeit der absoluten Bestimmung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses ist und damit die Ansprüche an den Atemgas-Analysator und die Online-Messung sehr hoch sein müssen (siehe 3.1.2 und 3.7).

Da von dem benutzten Atemgas-Analysator nicht direkt das $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis (R), sondern schon intern berechnet der $\delta^\circ/\text{‰}$ -Wert ausgegeben wird (Formel 3, Seite 11), muss die Formel 11 unter Verwendung von Formel 3 entsprechend umgeschrieben werden:

$$\text{LiMAX} = \frac{(\delta_{\text{tmax}} - \delta_{\text{t0}}) \cdot R_{\text{PDB}} \cdot P \cdot M}{\text{KG}} \quad [\mu\text{g/h/kg}] \quad (12)$$

Da $\delta_s - \delta_{t0}$ dem „Delta over baseline“ (DOB)-Wert entspricht (Formel 4) kann die Formel 12 weiter vereinfacht werden:

$$\text{LiMAX} = \frac{(\text{DOB}_{\text{max}}) \cdot R_{\text{PDB}} \cdot P \cdot M}{\text{KG}} \quad [\mu\text{g/h/kg}] \quad (13)$$

Der LiMAX-Wert gibt damit die aktuelle maximal mögliche Umsatzrate am Cytochrom p450 CYP1A2 wieder, was repräsentativ für die **aktuelle maximale Leberfunktionskapazität** ist.

Das gesamte Verfahren ist zum Patent angemeldet und bereits unter der Internationalen Veröffentlichungsnummer WO 2007/000145 A2 offengelegt (54).

3.10 Spezifität des LiMAx-Testes – anhepatische Messungen

Während der Lebertransplantation ist in der anhepatischen Phase für einen Zeitraum von etwa 45 bis 60 min keine Leber im Organismus vorhanden. Um die Spezifität eines Leberfunktionstests zu untersuchen ist diese Phase daher optimal, da zu dieser Zeit keine Leberfunktion messbar sein darf.

Zu diesem Zweck wurden insgesamt 7 Patienten während der Lebertransplantation untersucht. Es wurden nur Patienten eingeschlossen, die zur ersten Lebertransplantation vorgesehen waren und keine wesentlichen abdominellen Voroperationen hatten (erlaubt waren Appendektomie und Cholecystektomie), um Probleme und erhöhten Volumenumsatz zu vermeiden. Das Alter der Patienten betrug im Median 49 (Range 35-69) Jahre. Vorbereitend wurde bei diesen Patienten kein volatiles Anaesthetikum (Isofluran oder Sevofluran) sowie kein Lachgas (N_2O) benutzt, um die bekannte direkte Beeinflussung der NDIRS-Messung zu vermeiden (18). Es wurde alternativ eine total intravenöse Anaesthetie durchgeführt, die ebenfalls zu den Standardverfahren gehört. Weiterhin wurde die Sauerstofffraktion (FiO_2) während der Messphasen konstant auf 1,0 (100%) belassen. Die FiO_2 wird während der anhepatischen Phase und der Reperfusion routinemäßig auf 1,0 gestellt. Hierdurch wurde der in 4.3 gezeigte Einfluss von Sauerstoff vermieden (17). Sobald die Leber vollständig explantiert war wurde die LiMAx-Messung gestartet, dies erfolgte wie unter 3.9.1.2 beschrieben, nur wurde in 2 minütlichen Probenabständen bis ca. 60 min nach Reperfusion weitergemessen, also in der Regel insgesamt ca. 2 Stunden. Die Injektion des ^{13}C -Methacetins erfolgte weiterhin regelhaft über den routinemäßig vorhandenen zentralen Venenkatheter nachdem die 5 Basalmessungen akquiriert wurden.

3.11 Der LiMAx-Test in der Leberchirurgie

3.11.1 Patientenkollektiv

Im Rahmen einer prospektiven Beobachtungsstudie an der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité – Campus Virchow Klinikum wurden zwischen August 2004 und Februar 2007 insgesamt 108 Patienten eingeschlossen, die für eine Leberteilresektion vorgesehen waren. Folgende Ein- und Ausschlusskriterien fanden Anwendung:

Einschlusskriterien

1. Männliche oder weibliche Patienten denen ein Teil ihrer Leber als Trisektorektomie oder als Hemihepatektomie rechts oder links entfernt wird
2. Patientenalter 18-75 Jahre
3. Patienten, die ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie gegeben haben

Ausschlusskriterien

1. Patienten, die Lebertransplantiert wurden
2. Patienten mit einem porto-systemischen shunt
3. Patienten mit einer schweren Infektionskrankheit oder mit Fieber $>38,5^{\circ}\text{C}$
4. Jegliche Faktoren, die die Fähigkeit des Patienten einschränken, während der Studie zu kooperieren (z.B. mentale Funktion oder Drogenmißbrauch)

Nach stationärer Aufnahme und der präoperativen Messung wurden 16 Patienten wegen inoperabilität oder schlechter Leberfunktion gar nicht operiert und ausgeschlossen. Drei weitere Patienten wurden zur Lebertransplantation evaluiert. Nach der präoperativen Evaluierung wurden schließlich 89 Patienten operiert. Bei 25 Patienten mit fortgeschrittenen Tumoren zeigte sich erst intraoperativ ein inoperabler Befund, so dass hier nur eine Probelaparotomie ohne Leberteilresektion durchgeführt wurde. Auch diese Patienten wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Eine Übersicht über diesen Studieneinschluss gibt Abbildung 11.

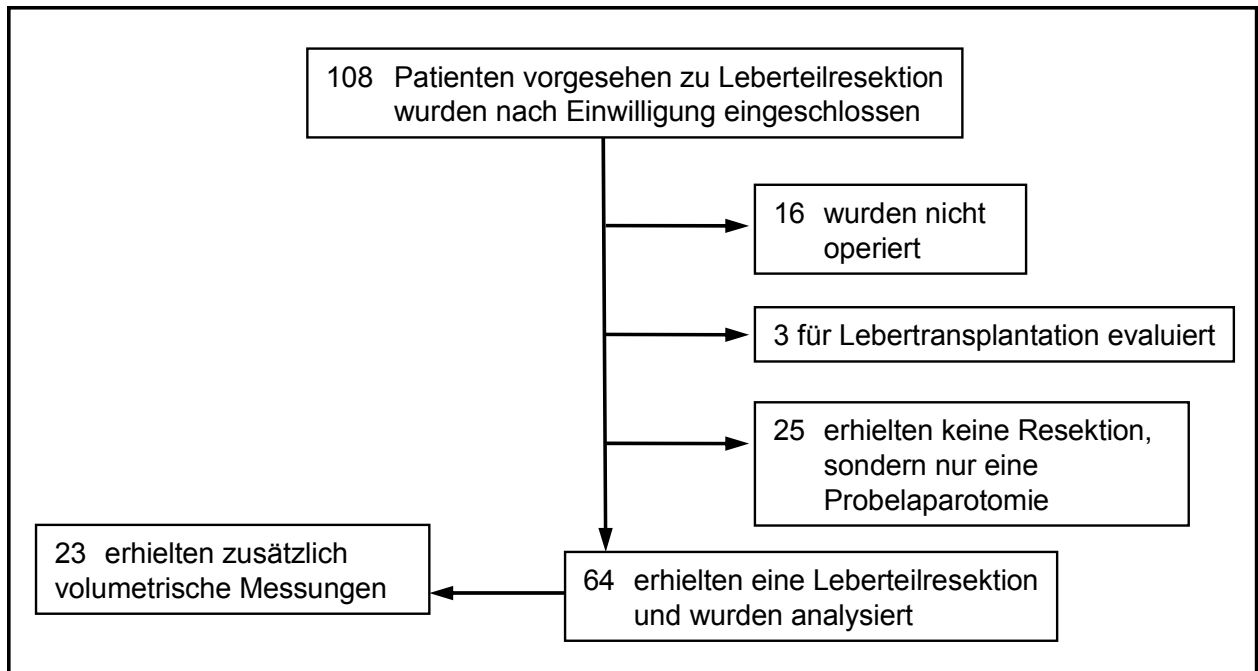


Abbildung 11. Übersicht über den Studieneinschluss und die ausgeschlossenen Patienten.

Insgesamt 64 Patienten erhielten eine Leberteilresektion und wurden in die Analyse eingeschlossen. Von diesen Patienten wurde bei 23 ohne relevante Fibrose in der Leber oder Ischämie während der Operation zusätzlich eine volumetrische Analyse mit CT-Volumetrie und intraoperativer Verdrängungsvolumetrie durchgeführt (s.u.). Einen genaueren Überblick über die Patientencharakteristika der analysierten Patienten gibt Tabelle 3.

	Leberteilresektion (n = 64)	Volumenanalyse (n = 23)
Alter (Jahre)	59 ± 10	57 ± 11
Männliches Geschlecht (%)	45 (70)	13 (57)
BMI	25 ± 3.7	25 ± 4.2
Child-Pugh (A/B/C)	51/13/0	22/1/0
Äthiologie (%)		
Klatskin-Tumor	32 (50)	---
Hepatozelluläres Karzinom	8 (13)	4 (17)
Kolorektale Metastase	12 (19)	9 (39)
Cholangiozelluläres Karzinom	6 (9)	4 (17)
Andere	6 (9)	6 (26)
Operationsart (%)		
Trisektorektomie rechts	32 (50)	3 (13)
Hemihepatektomie rechts einschließlich erweitert rechts	18 (28)	14 (61)
Hemihepatektomie links einschließlich erweitert links	9 (14)	3 (13)
Atypische Leberteilresektion	5 (8)	3 (13)

Tabelle 3. Patientencharakteristika bei Leberteilresektion.

Aufgelistet ist das Gesamtkollektiv (n=64) und das Teilkollektiv, bei dem zusätzlich eine Volumenanalyse mit CT-Volumetrie und intraoperativer Wasserverdrängungsvolumetrie durchgeführt wurde (vgl. 3.11.3).

3.11.2 Normalkollektiv

Um einen Referenzbereich festlegen zu können wurden 42 gesunde Probanden (17 Frauen, 25 Männer) untersucht. Das Alter betrug im Mittel 33 ± 10 Jahre, der BMI 23 ± 3 kg/m². Alle Probanden hatten keine bekannte akute oder chronische Erkrankung und nahmen keine Medikamente ein. Alle Probanden erhielten außer dem LiMAx-Test einen ICG-Test, eine umfangreiche Laboranalyse sowie eine klinische Untersuchung und Anamnese.

3.11.3 Evaluation des LiMAx-Testes im Vergleich zum Lebervolumen

Um den LiMAx-Test gegenüber dem resizierten Lebervolumen zu evaluieren wurde ein Teilkollektiv anhand folgender Kriterien ausgewählt: Erstens durften die ausgewählten Patienten keine relevante Fibrose in der gesunden Leber haben. Hierzu wurde tumorfernes Lebergewebe im entfernten Leberteile nach dem Fibrose Score von Desmet und Scheuer bewertet (55). Patienten mit einem Fibrose Score von ≥ 3 wurden ausgeschlossen. Zweitens durfte keine relevante intraoperative Ischämie des Lebergewebes von mehr als 15 min durch ein Pringle-Manöver oder ein Klemmen der V. portae bei einer Pfortaderanastomose vorgelegen haben. Diese Daten wurden durch Auswertung der OP- und Anaesthesieprotokolle erhoben. Durch beide Ausschlusskriterien wurde sichergestellt, dass in die vergleichende Analyse zwischen Rest-Lebervolumen und Rest-Leberfunktion nur Datensätze ohne anderweitige Beeinflussung der Leber eingeschlossen wurden. Die Patientencharakteristika dieses Kollektives sind ebenfalls in Tabelle 3 aufgeführt.

Zur Bestimmung des funktionellen Restleber Volumens (FRLV) wurde folgende Formel angewendet:

$$\text{FRLV} [\%] = 100 \times \frac{\text{Lebervolumen (ml)} - \text{Resizierte Leber (ml)} \cdot 1,15}{\text{Lebervolumen (ml)} - \text{Tumorzvolumen (ml)}} \quad (14)$$

Das Leber- und Tumorzvolumen wurde durch eine präoperative CT-Volumetrie bestimmt. Hierzu wurde eine 4-Phasen Kontrastmittel verstärkte CT-Untersuchungstechnik angewandt (LightSpeed 64®; GE Medical Systems, Milwaukee, IL, USA). Auf Basis dieser Bilddaten wurde die bildgestützte Volumenmessung mit der AMIRA Software (Mercury Computer Systems, Chelmsford, Massachusetts, USA) durchgeführt.

Das Volumen des resizierten Leberteils wurde intraoperativ durch Wasserverdrängung gemessen. Hierbei wurde das Leberpräparat in ein wassergefülltes Überlaufgefäß getaucht und das abfließende Wasser mit einem Messzylinder aufgefangen und gemessen (56). Der erhaltene Wert wurde mit einem Faktor von 1,15 multipliziert, um den nicht perfundierten Status des Gewebes zu kompensieren (57).

Mit dem FRLV wurde die Rest-Leberfunktion im LiMAx-Test oder ICG-Test korreliert. Zur Berechnung wurde folgende Formel verwendet:

$$\text{Rest - LiMAx (ICG) [\%]} = 100 \times \frac{\text{LiMAx (ICG) POD1}}{\text{LiMAx (ICG) präoperativ}} \quad (15)$$

3.11.4 Wertigkeit des LiMAx-Test in der Leberchirurgie

Im Rahmen der prospektiven Beobachtungsstudie wurden die 64 Patienten nach folgendem Zeitplan untersucht:

<i>Zeitplan der Untersuchungen</i>								
Monat	1							3
Woche	1						2	12
Tag	präOP	0	1	2	3	5	10	84
Operation		X						
LiMAx-Test	X		X	X	X	X	X	X
ICG-Test	X		X	X	X	X	X	X
Histologie		X						
Resektatvolumen/-gewicht		X						
CT	X							
Klin. Unters./CRF	X		X	X	X	X	X	X
Albumin, Quick	X		X	X	X	X	X	X
PCHE, FII, FVII	X		X	X	X	X	X	X
Ammoniak	X		X	X	X	X	X	X
allg. Chemie	X		X	X	X	X	X	X
Blutbild	X		X	X	X	X	X	X

Tabelle 4. Zeitplan der Untersuchungen bei Patienten vor und nach

Leberteilresektion im Rahmen einer prospektiven Beobachtungsstudie.

CT = Computertomographie; CRF = Standardisierter klinischer Erhebungsbogen.

Zu jedem Untersuchungstermin wurden standardisiert die gleichen Untersuchungen durchgeführt, die klinischen Befunde und zwischenzeitlichen Ereignisse wurden auf einem standardisierten Erhebungsbogen (CRF) dokumentiert. Das Operationspräparat wurde von einem Pathologen, der ansonsten keine weiteren klinischen Informationen zur Verfügung hatte („geblindet“), histologisch untersucht. Dazu wurde ein Teil des Operationspräparates in einem tumorfernen und unbeeinflussten Teil bewertet. Zur

semiquantitativen Bestimmung der Fibrose in diesem Leberteil wurde die Klassifikation nach Desmet und Scheuer verwendet (55).

Das Auftreten von jeglichen Komplikationen im postoperativen Verlauf wurde genauestens dokumentiert und nach der revidierten Klassifikation für chirurgische Komplikationen der Clavien-Gruppe bewertet (Tabelle 5) (58).

Grade	Definition
Grade I	Any deviation from the normal postoperative course without the need for pharmacological treatment or surgical, endoscopic, and radiological interventions Allowed therapeutic regimens are: drugs as antiemetics, antipyretics, analgetics, diuretics, electrolytes, and physiotherapy. This grade also includes wound infections opened at the bedside
Grade II	Requiring pharmacological treatment with drugs other than such allowed for grade I complications Blood transfusions and total parenteral nutrition are also included
Grade III	Requiring surgical, endoscopic or radiological intervention
Grade IIIa	Intervention not under general anesthesia
Grade IIIb	Intervention under general anesthesia
Grade IV	Life-threatening complication (including CNS complications)* requiring IC/ICU management
Grade IVa	Single organ dysfunction (including dialysis)
Grade IVb	Multiorgan dysfunction
Grade V	Death of a patient

Suffix “d” If the patient suffers from a complication at the time of discharge (see examples in Table 2), the suffix “d” (for “disability”) is added to the respective grade of complication. This label indicates the need for a follow-up to fully evaluate the complication.

*Brain hemorrhage, ischemic stroke, subarachnoidal bleeding, but excluding transient ischemic attacks. CNS, central nervous system; IC, intermediate care; ICU, intensive care unit.

Tabelle 5. Klassifikation chirurgischer Komplikationen.

Wiedergabe des Originaltextes in Englisch aus Dindo et al. (58)

Definition einer schweren Komplikation: Eine schwere Komplikation wurde als Komplikation \geq Grade (Grad) IIIa nach der Definition in Tabelle 5 festgelegt.

Definition einer schweren Leberinsuffizienz im postoperativen Verlauf: Eine schwere Leberinsuffizienz wurde definiert als das eindeutige Vorliegen einer hepatischen Enzephalopathie $>$ Grad I oder einem erhöhten totalem Bilirubin $>$ 10 mg/dl am oder nach dem 5. postoperativen Tag (POD) ohne mechanische Cholestase.

Alle Daten wurden prospektiv erfasst und kontinuierlich in eine Datenbank (Microsoft Access 97, Microsoft, Richmond, USA) für die spätere Analyse eingegeben.

3.12 Ethik

3.12.1 Studien mit Patienten oder Probanden

Alle durchgeführten Studien wurden von der örtlichen Ethikkommission genehmigt. Jeder Patient wurde durch eine Patienteninformation informiert und gab sein schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie.

3.12.2 Tierversuche

Die Tierversuche wurden von der lokalen Behörde (Landesamt für Gesundheit und Soziales) genehmigt und entsprechend der gültigen Richtlinien in den Tierexperimentellen Einrichtungen der Charité – Campus Virchow Klinikum durchgeführt.

3.13 Statistische Analysen

Die Daten werden, wenn nicht anders erwähnt, als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) oder Median (Range) dargestellt. Die statistische Auswertung aller Daten erfolgte in enger Absprache mit dem Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie der Charité. Verwendet wurde hauptsächlich das Softwarepaket SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) in der Version 13.0 oder 15.0. Für multivariate Verlaufsanalysen wurde teilweise die Software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) verwendet. Die jeweils verwendeten Tests sind im Ergebnisteil bei den entsprechenden Daten erwähnt. Ein $p < 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 Vorversuche mit dem oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtest

Von den untersuchten 12 Patienten verstarb eine Patientin (#RJ-O-01) (8,3 %) bei schwerem postoperativen Verlauf mit Biliomausbildung, Pneumonie und letztlich Sepsis. Eine Leberinsuffizienz in den ersten 10 postoperativen Studientagen bestand nicht (max. Bilirubin 2 mg/dl). Zwei (#HD-O-03 und #ZJ-O-13) von 12 Patienten (16,7 %) entwickelten eine Leberinsuffizienz im postoperativen Verlauf mit Bilirubinwerten über 10 mg/dl. Entsprechend verlängert war der postoperative Verlauf. Die restlichen Patienten hatten einen weitestgehend unauffälligen postoperativen Verlauf ohne Leberinsuffizienz.

Der orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest konnte bei allen Patienten problemlos durchgeführt werden. Nebenwirkungen traten nicht auf. Zu allen Zeitpunkten konnten bis auf POD 10 alle Messungen durchgeführt werden. An POD 10 konnten 3 Messungen nicht durchgeführt werden, da die Pat. ablehnten oder eine Messung aus anderen Gründen nicht möglich war.

Da die ersten postoperativen Messungen in dieser Versuchsserie sehr schnell zeigten, dass ein wesentlicher Teil der Messergebnisse durch Resorptionsstörungen wegen postoperativer Darmatonie verfälscht und somit nicht beurteilbar waren, beschränkt sich die Darstellung der Ergebnisse auf eine explorative Analyse des ^{13}C -Methacetin-Atemtests und des klinischen Verlaufs. In Abbildung 12 bis Abbildung 15 sind die Einzelkurven der Patienten jeweils präoperativ und am POD 2,3 und 10 dargestellt.

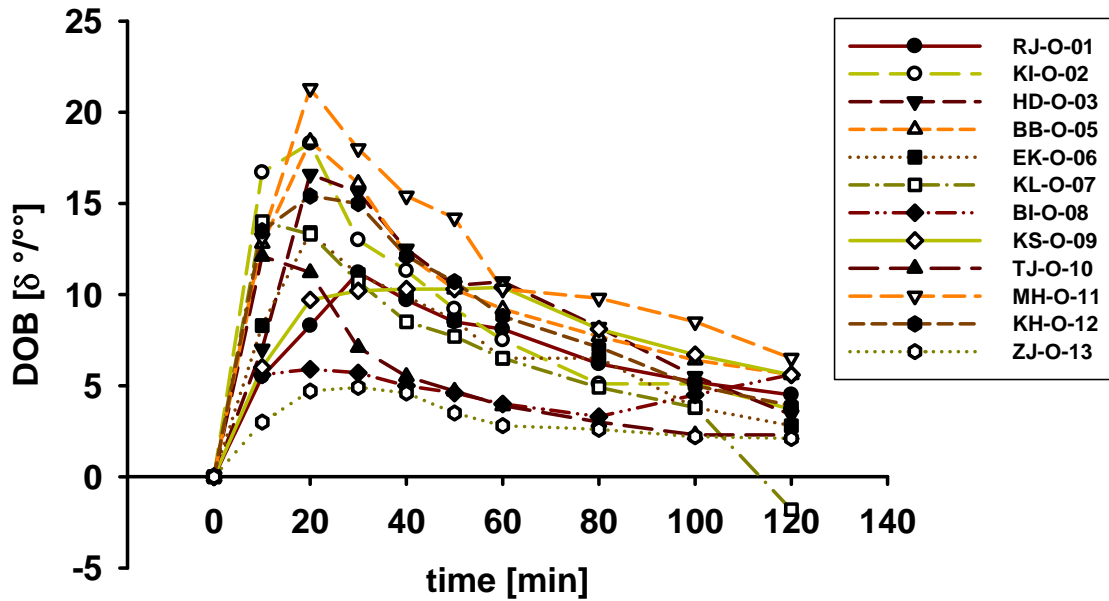


Abbildung 12. Orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten präoperativ.

DOB = delta over baseline.

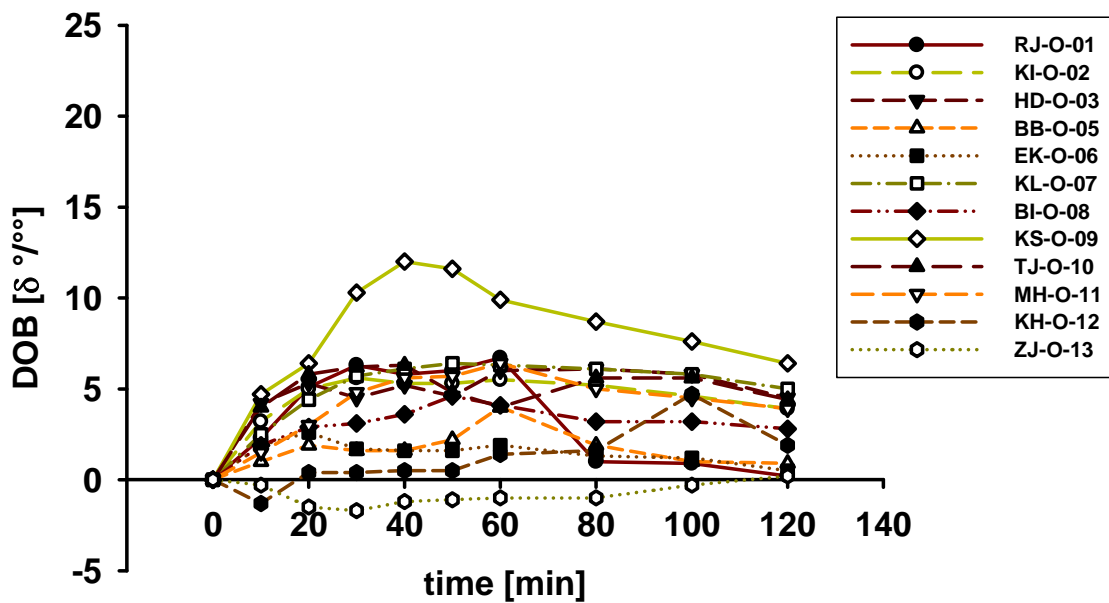


Abbildung 13. Orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten am POD 2.

DOB = delta over baseline.

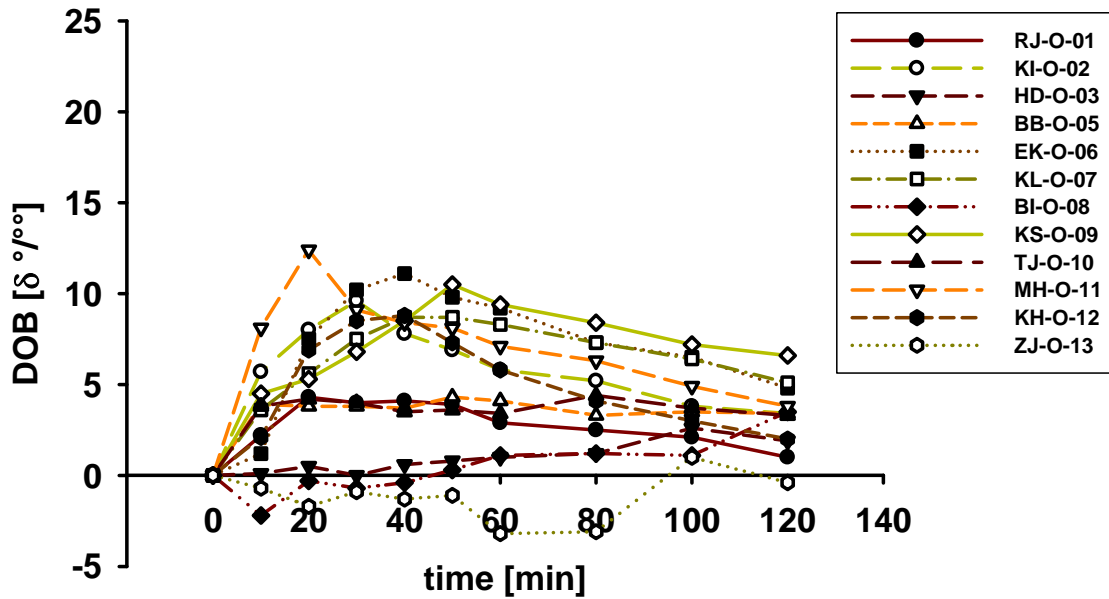


Abbildung 14. Orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten am POD 3.

DOB = delta over baseline.

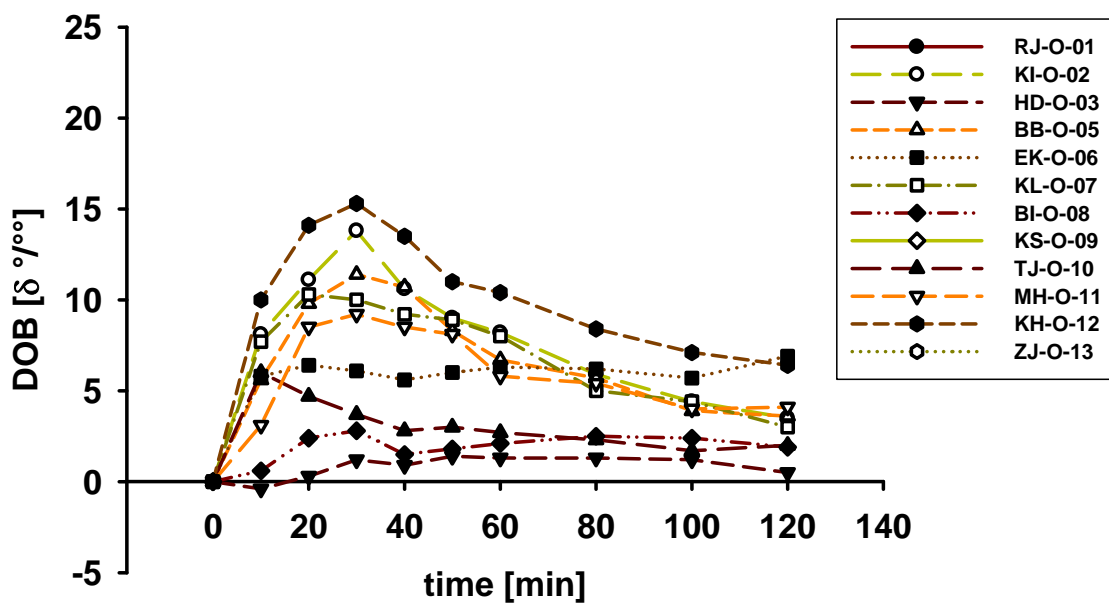


Abbildung 15. Orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten am POD 10.

DOB = delta over baseline.

Auf den ersten Blick ist sichtbar, dass es postoperativ bei einigen Patienten kaum zu einem Signalanstieg kommt, obwohl die Patienten einen problemlosen postoperativen

Verlauf hatten. Parallel ließ sich hier klinisch die Symptomatik einer gewissen Darmatonie eruieren. Im Folgenden sind zwei einzelne Patienten ohne postoperative Leberinsuffizienz beispielhaft in ihrem Verlauf dargestellt:

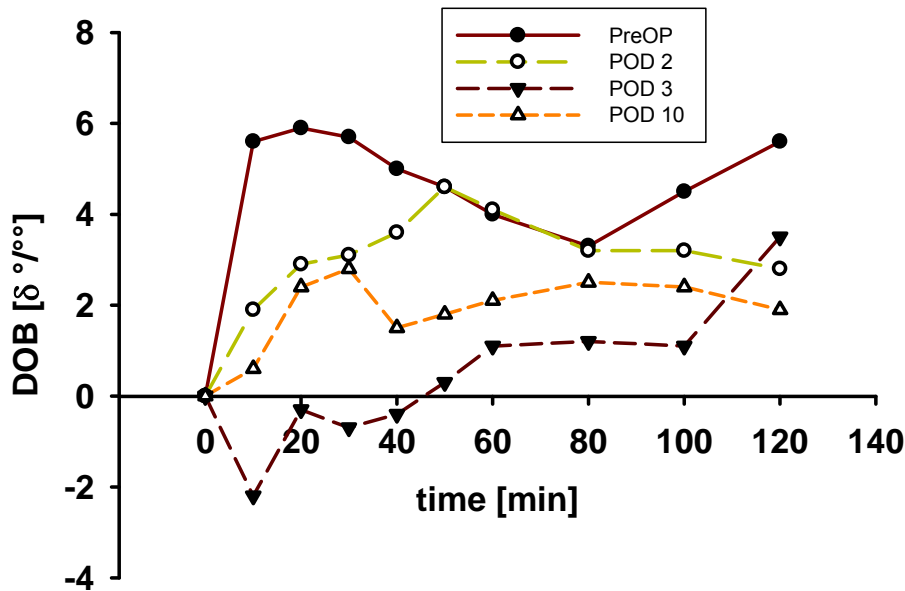


Abbildung 16. Oraler ^{13}C -Methacetin-Atemtest: Patientin BI-O-08 im postoperativen Verlauf.

Bei unauffälligem postoperativen Verlauf wird ein deutlich verzögerter Kurvenanstieg am 3. POD wegen einer Darmatonie deutlich. Ebenso ist die Kurve am 10. POD verzögert und durch ungleichmäßige Resorption verändert.

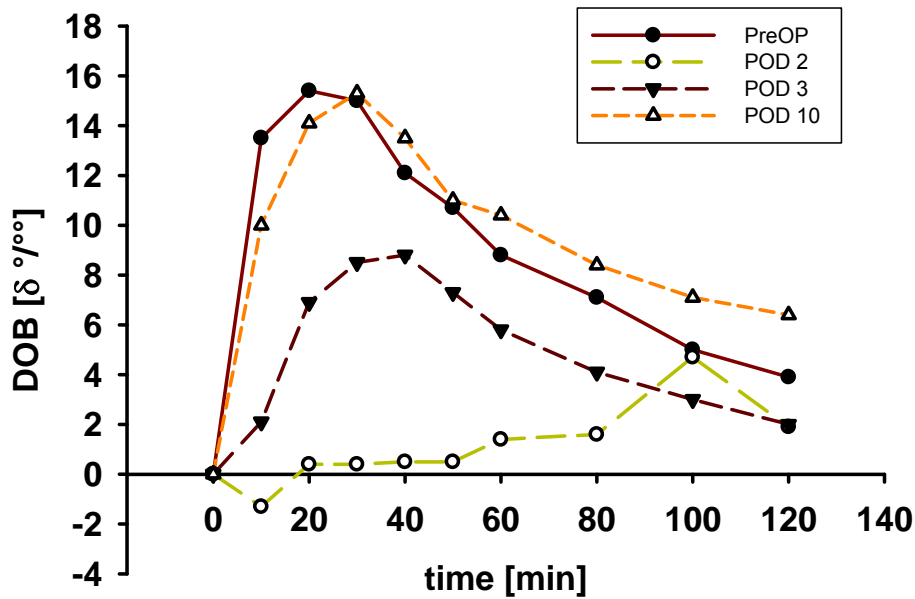


Abbildung 17. Oraler ^{13}C -Methacetin-Atemtest: Patientin KH-O-12 im postoperativen Verlauf.

Bei ebenfalls unauffälligem postoperativen Verlauf zeigt sich am 2. POD eine deutlich verzögerte Resorption mit fast völlig fehlendem Kurvenanstieg.

Zusammengefasst zeigten diese Ergebnisse, dass im postoperativen Verlauf nach abdominalen Operationen der orale ^{13}C -Methacetin-Atemtest nicht zuverlässig eingesetzt werden kann.

4.2 Einfluss einer akuten Cholestase auf den ICG-Test im Tiermodell

Das präoperative Gewicht unterschied sich nicht zwischen beiden Gruppen. Die Ligatur des Gallengangs (BDL) war gut an einem leichten, signifikanten, Anstieg von Bilirubin und ALT zu erkennen (Tabelle 6).

	Sham	BDL
Gewicht [g]	259 ± 6.4	252 ± 8.9
Bilirubin nach 1h [mg/dl]	0.12 ± 0.02	1.2 ± 0.09 **
ALT nach 1h [U/l]	66.8 ± 3.8	206.0 ± 41.4 **

Tabelle 6. ICG-Test bei Ratten: Präoperatives Gewicht und Labordaten eine Stunde nach Gallengangsligatur.

** $p < 0.005$ gegenüber Sham. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM.

In der Histomorphologie zeigte sich kein Unterschied zwischen der Sham-Gruppe und BDL-Gruppe. Nach einer Stunde Gallengangsligatur war die lobuläre und hepatozelluläre Architektur intakt und es bestand keine sichtbare Zunahme einer Entzündung, Cholestase oder von Nekrosen in der BDL-Gruppe (Abbildung 18).

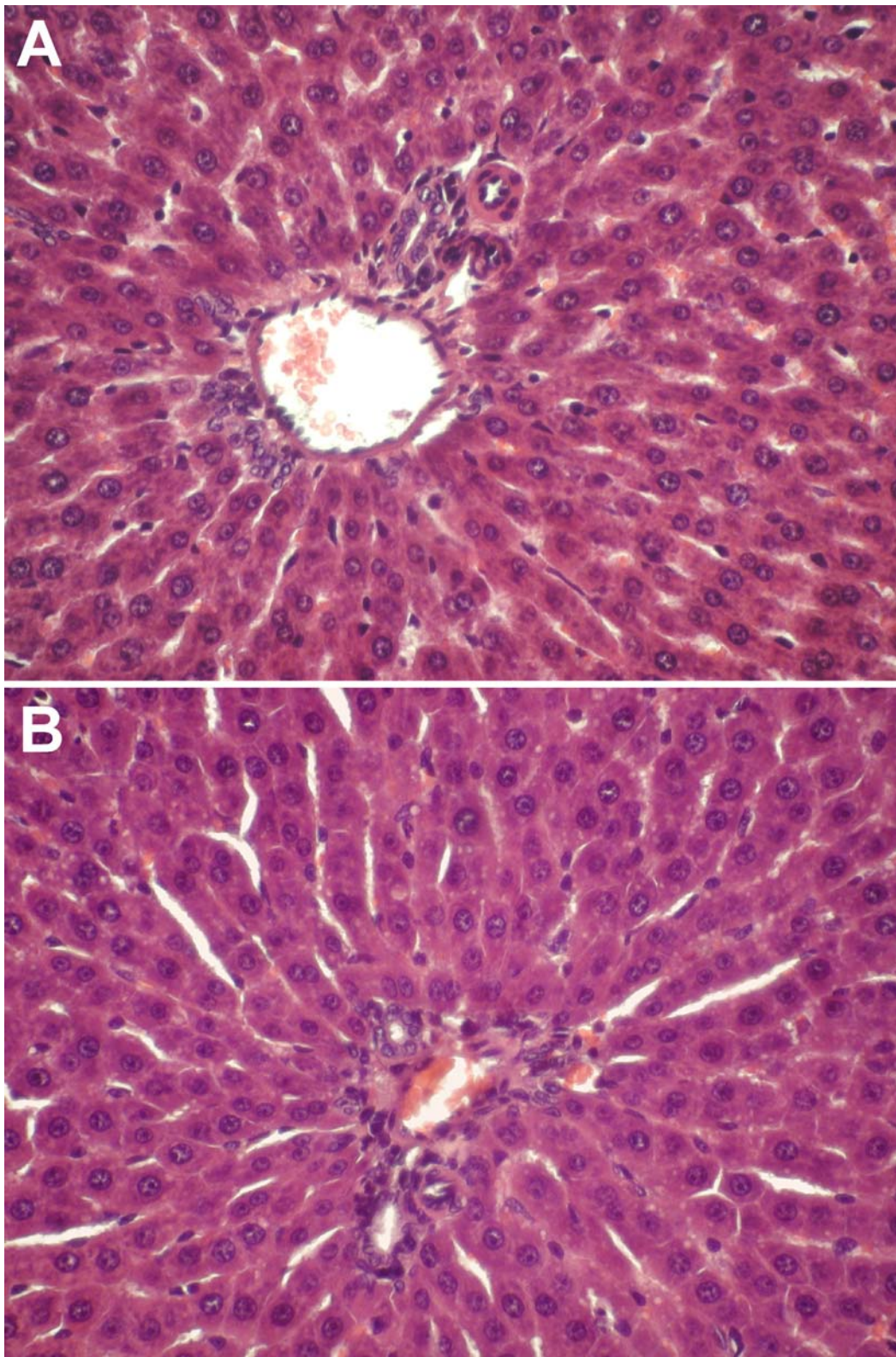


Abbildung 18. ICG-Test bei Ratten: Histomorphologie (HE).

*Konrolltiere - Sham (A) und Tiere eine Stunde nach Gallengangsligatur (B).
Vergrößerung x200.*

In Abbildung 19 sind die Daten des ICG-Tests vor und 30 min sowie 60 min nach Gallengangsligatur wiedergegeben. Klar sichtbar ist ein signifikante Abfall der ICG-PDR bereits 30 min nach Gallengangsligatur und gleichbedeutend ein Anstieg der ICG-R15 zu diesem Zeitpunkt. Die ICG-PDR fällt um 75% von 47.2 ± 2.8 %/min auf 11.7 ± 1.3 %/min ab, ICG-R15 steigt von 0.13 ± 0.04 % auf 19.3 ± 2.9 %. Diese Veränderungen verstärken sich noch leicht bei 60 min.

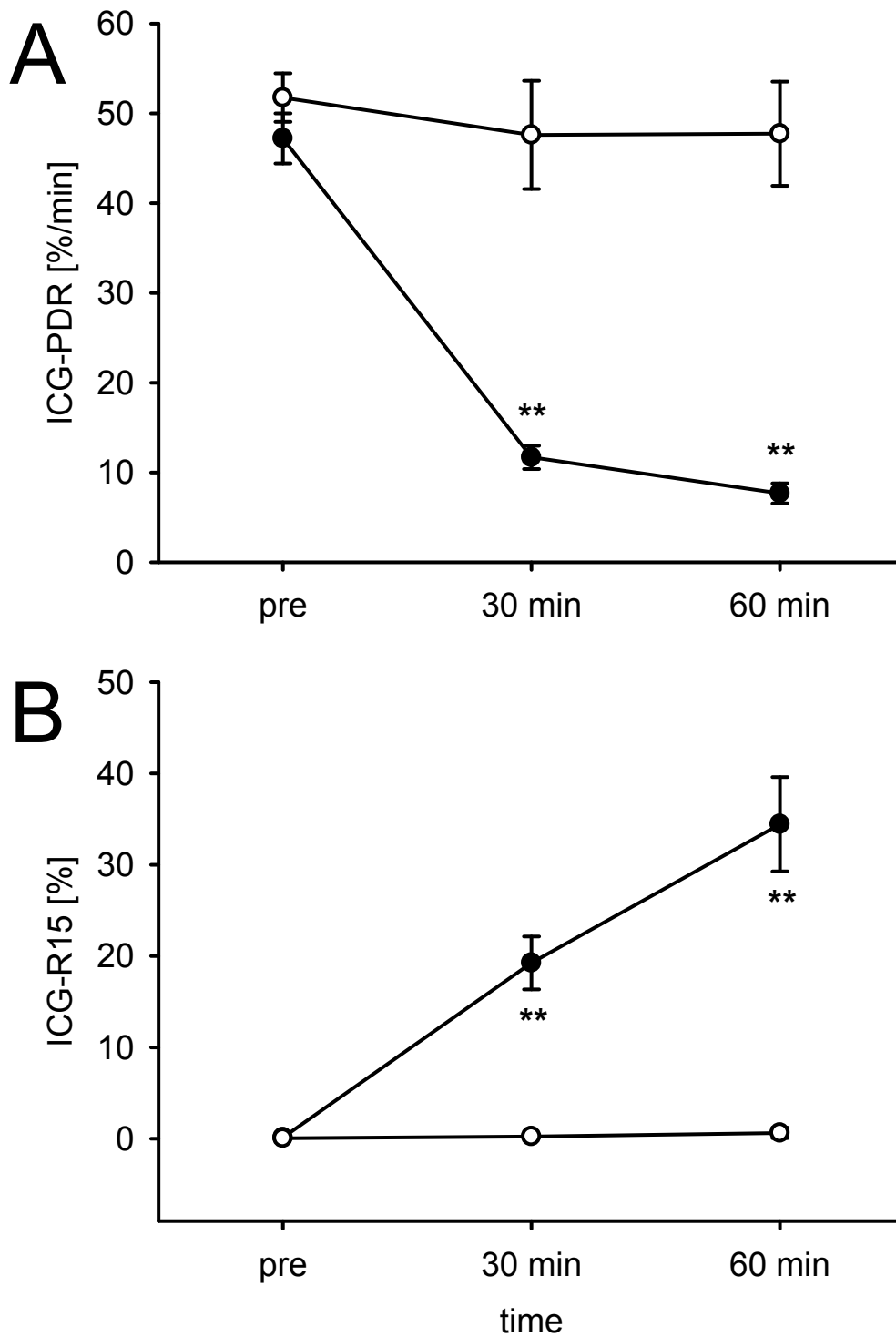


Abbildung 19. ICG-Test bei Ratten: Deutlicher Einfluss der Gallengangsligatur (BDL, ●) auf das Testergebnis im Vergleich zur Kontrolle (Sham, ○).

Dargestellt ist in A die Plasmaverschwinderate (PDR) und in B die ICG-Retention bei 15 min (R15). pre = präoperative; 30 min und 60 min nach Gallengangsligatur; ** $p < 0.005$ gegenüber Sham. Alle Werte sind Mittelwerte \pm SEM.

4.3 Einfluss von Sauerstoff auf die NDIRS-Messtechnik

Die Abbildung 20 gibt die Daten als Box und Whiskers plot wieder. Der $\delta^{\circ}/_{\circ\circ}$ Mittelwert vor Sauerstoff-Inhalation war $-25,8 \pm 0,2$. Direkt nach 5 min 100% Sauerstoff-Inhalation stieg der $\delta^{\circ}/_{\circ\circ}$ –Wert auf $-14,8 \pm 0,5$ an ($p < 0,0001$). Nach weiteren 5 min Raumluftatmung normalisierte sich der $\delta^{\circ}/_{\circ\circ}$ wieder auf $-25,6 \pm 0,2$. Die DOB-Werte direkt nach 100% Sauerstoff-Inhalation waren $11,0 \pm 0,4$ und nach 5 min weiterer Raumluftatmung $0,2 \pm 0,1$. Die Daten wurden bereits publiziert (17).

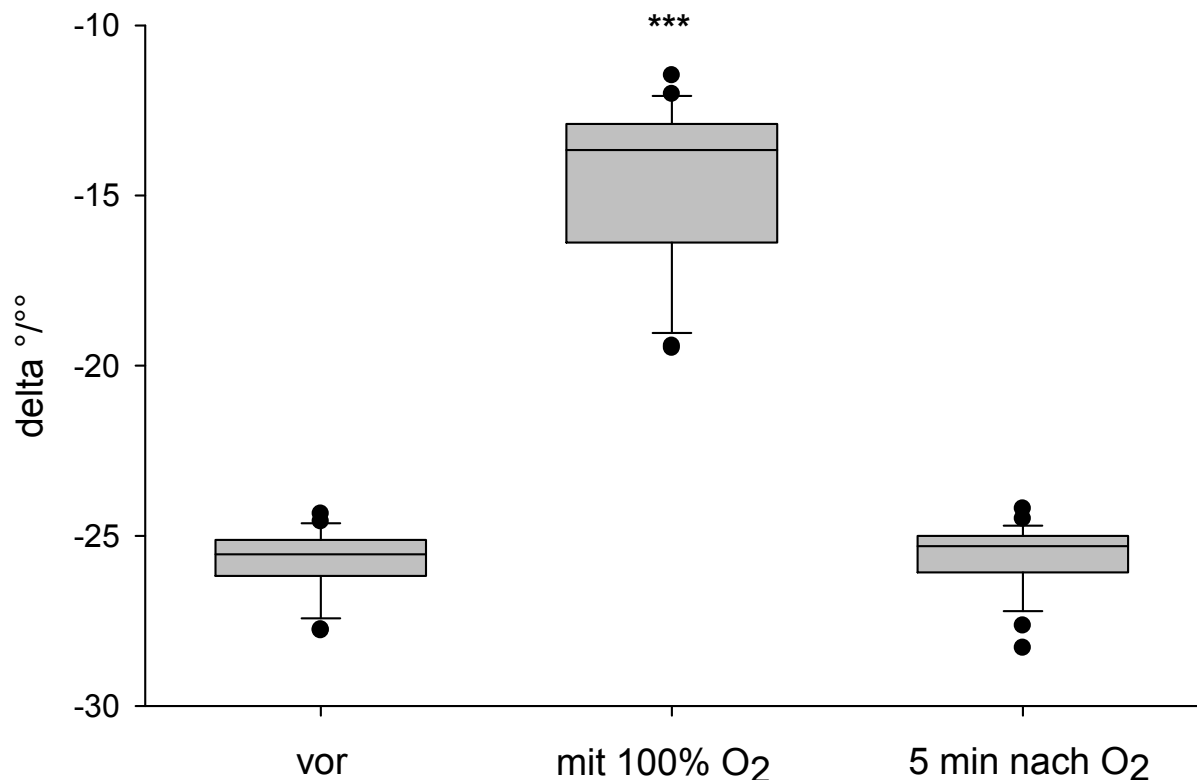


Abbildung 20. Box und Whiskers plot der $\delta^{\circ}/_{\circ\circ}$ – Werte vor, direkt nach und 5 min nach 100% Sauerstoff-Inhalation

*** $p < 0,0001$ gegenüber vor und nach Werten. Modifiziert nach (17).

4.4 Vergleichbarkeit zwischen Online- und konventionellen Beutel-Messungen

Bei insgesamt 3 gesunden Probanden wurden direkte Vergleichsmessungen zwischen neuer Online-Messung und gleichzeitig durchgeführter Beutel-Messung (vgl. Methoden) analysiert. Hierbei ergab sich ein im Bereich der Messgenauigkeit des NDIRS liegender

Unterschied von kleiner 1 DOB zu jedem gemessenen Datenpunkt der Beutel-Messung. Die erhaltenen Kurvenverläufe waren vergleichbar, wobei die Darstellung mit der Online-Messung präziser war und somit auch der Maximalwert besser analysiert werden konnte. Eine exemplarische Messung zeigt Abbildung 21.

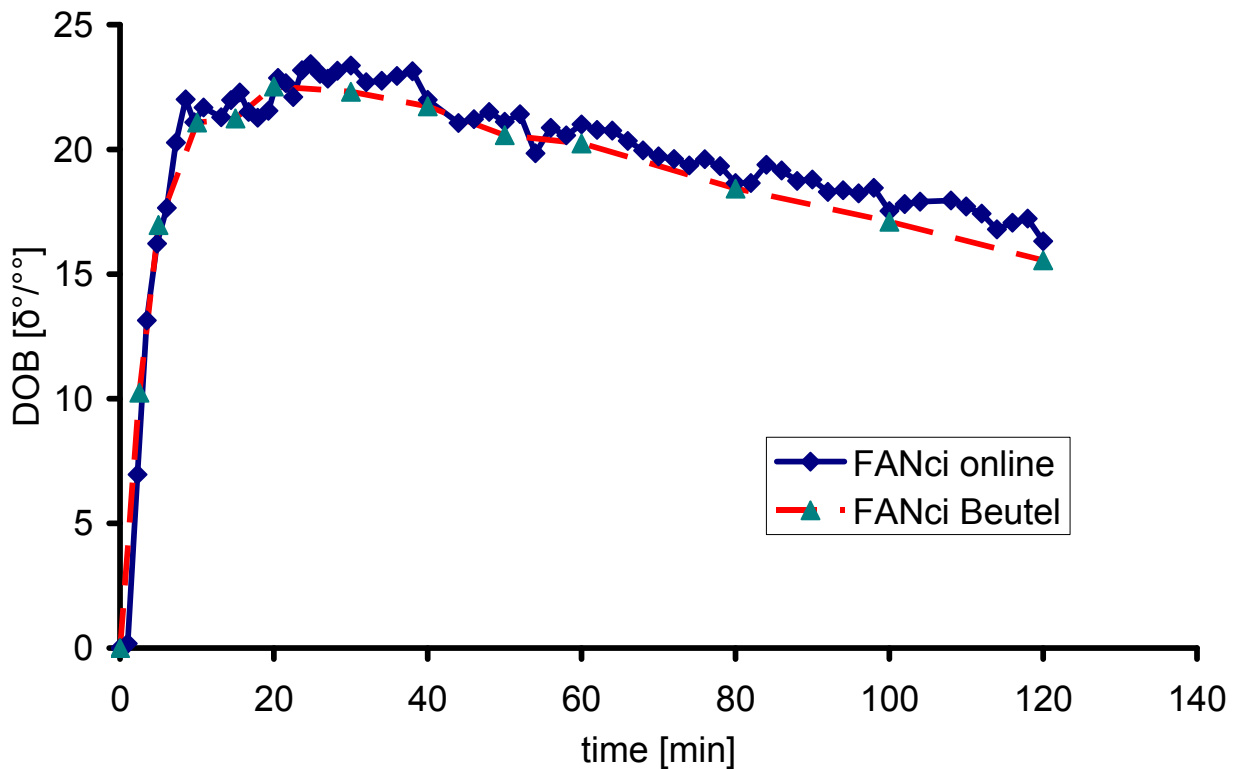


Abbildung 21. Direkter Vergleich zwischen neuer Online-Messung und gleichzeitiger Beutel-Messung.

Der Unterschied zwischen beiden Messungen ist an jedem Messpunkt kleiner als 1 DOB.

Weiterhin wurden wie im Methodenteil beschrieben grundsätzlich bei allen Online Messungen (n=202) Atemgasbeutel vor Beginn und direkt am Ende des Testes gepustet, so dass ein direkter Vergleich des Messwertes des letzten Datenpunktes (in der Regel 60 min) zwischen Online- und Beutel-Messung erfolgen konnte. Auch hierbei war bei korrekter störungsfreier Durchführung (Atemgasbeutel sofort nach Ende der Online-Messung gepustet) der Unterschied immer im Bereich von 1 DOB.

4.5 Spezifität des LiMAx-Testes – anhepatische Messungen

Nach Injektion von ^{13}C -Methacetin in der anhepatischen Phase zeigte sich in der folgenden Messzeit kein Signalanstieg. Die registrierten DOB-Werte während der anhepatischen Phase lagen zwischen $-1,0$ und $+1,5$ ‰ (range, $n=7$), was fast im Bereich der Messgenauigkeit des verwendeten NDIRS-Gerätes liegt. Sofort nach Reperfusion war dagegen ein deutlicher Anstieg der DOB-Werte zu verzeichnen vergleichbar mit einer Registrierungskurve eines normalen LiMAx-Testes nach Bolusinjektion. Eine exemplarische Originalregistrierung ist in Abbildung 22 wiedergegeben.

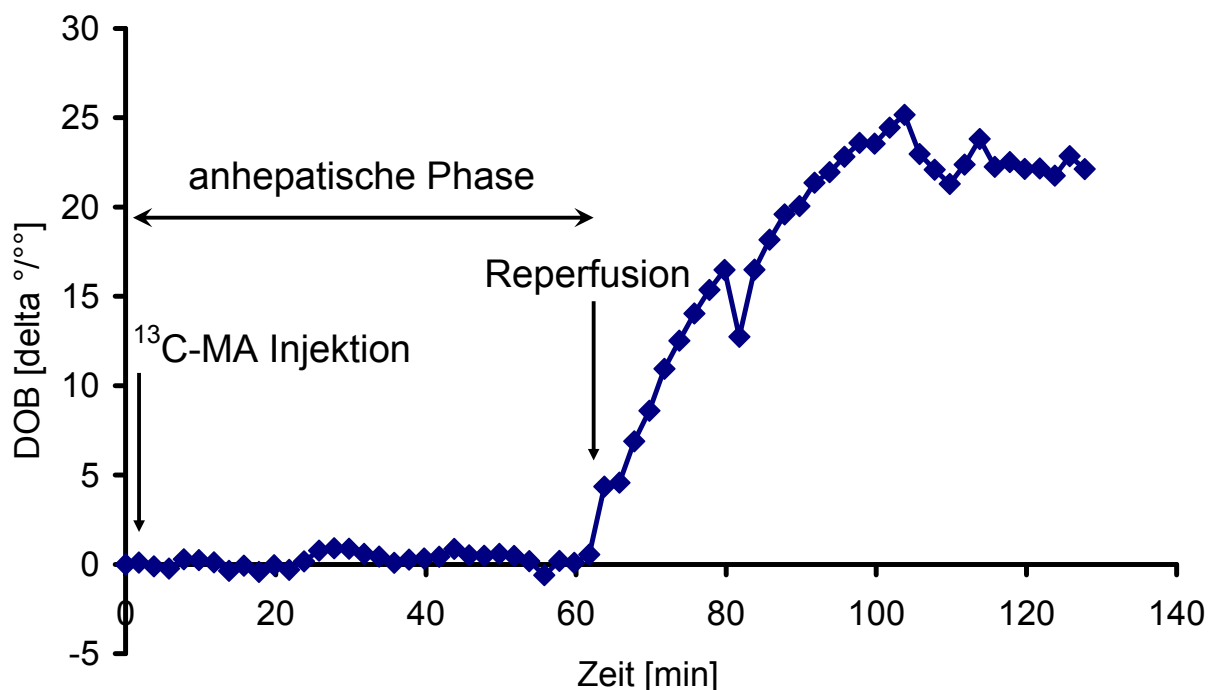


Abbildung 22. Exemplarische Originalregistrierung während einer Lebertransplantation in der anhepatischen Phase und nach Reperfusion.

Am Beginn der anhepatischen Phase wurde ^{13}C -Methacetin (^{13}C -MA) im Bolus intravenös injiziert und die DOB-Werte mit der Online-NDIRS-Technik aufgezeichnet.

4.6 Normalkollektiv

Bei keiner Messung im untersuchten Normalkollektiv trat eine unerwünschte Wirkung auf, selten gab es nach der Bolusinjektion eine ganz kurzzeitige Geschmackssensation (Sekunden). In dem untersuchten Normalkollektiv mit gesunden Probanden ($n=42$) betrug der LiMAX-Wert $425 \pm 67 \mu\text{g/h/kg}$. Es liegt eine Normalverteilung der Werte vor, der Kolmogorov-Smirnov-Test ergab ein $p=0,965$. Eine Darstellung als Box-Plot zeigt Abbildung 23. Es ergibt sich bei einem einseitigem $\alpha=0,05$ ein unterer Referenz-Wert ($-1,64 \cdot \text{SD}$) von $315 \mu\text{g/h/kg}$, der im Weiteren verwendet wurde. Eine zu hohe Leberfunktionskapazität gibt es nicht, weshalb die Normalwert-Analyse nur einseitig durchgeführt wurde. Die Anflutungszeit bis zum Erreichen des maximalen DOB-Wertes betrug $10,0 \pm 5,0 \text{ min}$.

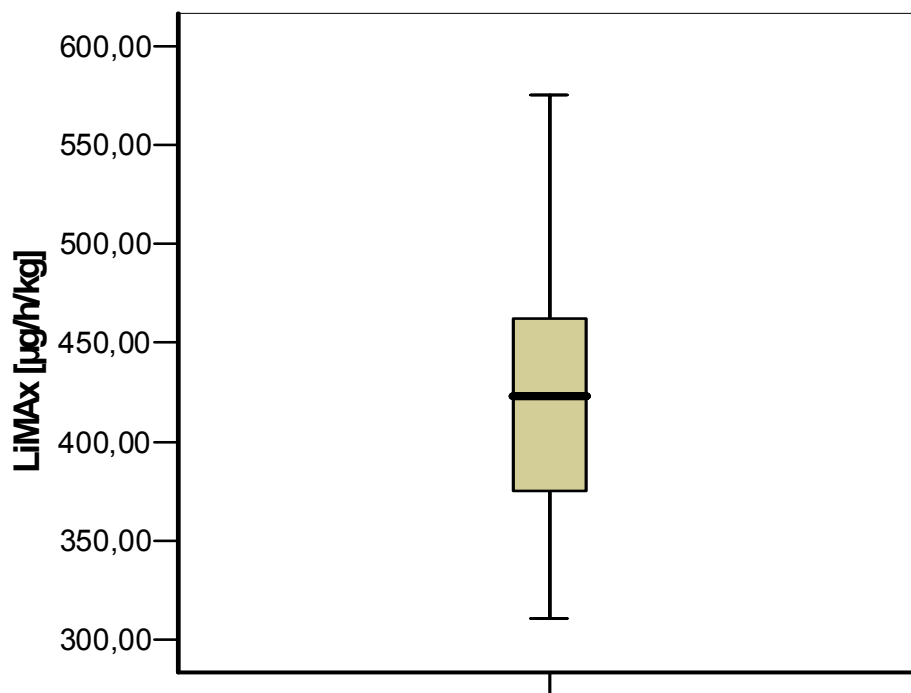


Abbildung 23. Box-Plot des Normalkollektives ($n=42$) für den LiMAX-Wert.

Abbildung 24 zeigt einen Box-Plot der LiMAX-Werte getrennt zwischen Rauchern und Nichtrauchern.

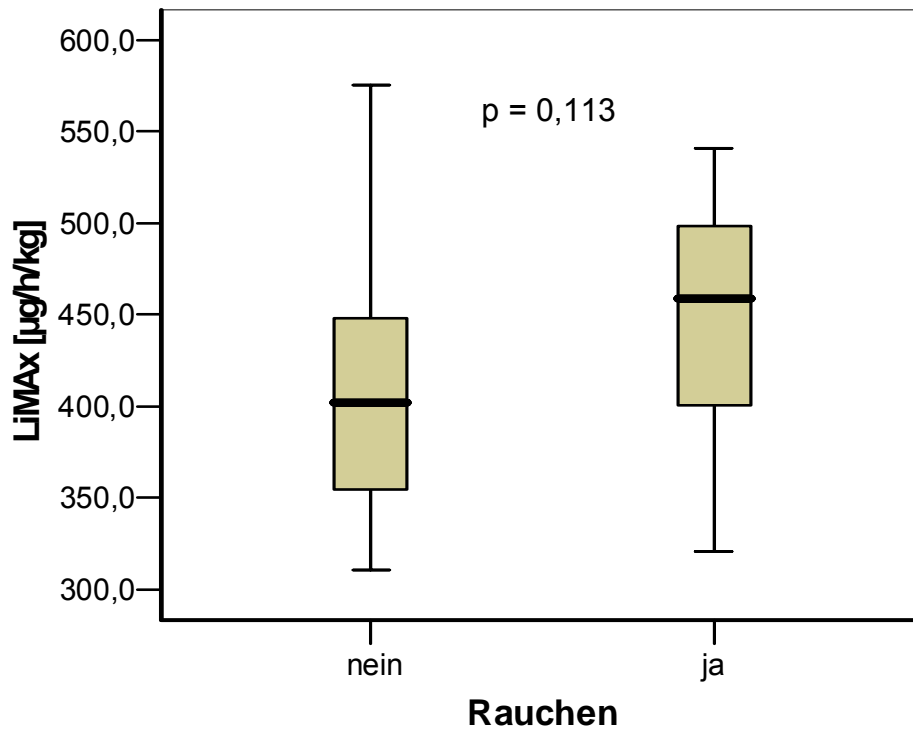


Abbildung 24. Box-Plot der Raucher (n=15) gegenüber den Nichtrauchern (n=27) des Normalkollektives.

Der Mittelwert des LiMAX-Wertes bei Nichtrauchern betrug $413 \pm 68 \mu\text{g/h/kg}$ und bei Rauchern $447 \pm 61 \mu\text{g/h/kg}$. Ein Oneway-ANOVA Test ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen Gruppen ($p=0,113$). Allerdings zeigte sich eine deutliche Tendenz zu höheren Werten bei Rauchern, die 8% über den Werten der Nichtraucher lagen. Diese Tendenz stimmt auch mit der Literatur zur Induktion des CYP1A2 durch Rauchen überein.

Eine Analyse des Zusammenhangs zwischen LiMAX-Wert und Alter der Probanden ergab keinen Zusammenhang (Pearson-Korrelation, $r=0,15$, $p=0,33$). Ebenfalls zeigte sich keine Geschlechtsabhängigkeit der LiMAX-Werte, die LiMAX-Werte bei Frauen waren $443 \pm 65 \mu\text{g/h/kg}$ und bei Männern $412 \pm 67 \mu\text{g/h/kg}$ (Oneway-ANOVA $p=0,149$).

4.7 Evaluation des LiMAx-Testes im Vergleich zum Lebervolumen

Von den 23 in diese Analyse eingeschlossenen Patienten konnten alle CT-Untersuchungen ausgewertet werden. Das ermittelte Gesamtvolumen der Leber vor der Leberteilresektion betrug 1670 ± 381 ml (Range 1205-2979 ml). Das im CT ermittelte Tumolvolumen betrug 179 ± 278 ml (Range 8-1240 ml). Die sehr kleinen Tumolvolumina von wenigen Millilitern kamen bei zentralen Gallengangstumoren (Klatskin-Tumoren) vor, wo in der Schnittbildgebung oft kaum ein Tumor auszumachen ist. Das mit der Verdrängungsvolumetrie intraoperativ gemessene resezierte Lebervolumen betrug im Mittel 812 ± 318 ml (Range 120-1540 ml). Das errechnete, verbliebene Lebervolumen betrug 735 ± 293 ml (Range 390-1467 ml). Aus den Werten wurde Anhand der Formel 14 (Seite 41) das prozentuale funktionelle Restlebervolumen (FRLV) errechnet, das $49,4 \pm 17,4$ % (Range 27-92 %) betrug. Durch dieses weite Spektrum an resezierten Volumina konnte eine aussagekräftige Korrelationsanalyse ermöglicht werden (s.u.).

Der prozentuale, verbliebene Rest am postoperativen Tag 1 berechnet nach der Formel 15 (Seite 42) betrug im LiMAx-Test $46,5 \pm 18,3$ % und im ICG-Test $55,9 \pm 21,3$ %.

Mit dem FRLV wurde jeweils der Rest-LiMAx und der Rest-ICG bzw. Rest-Faktor VII (FVII) nach Pearson korreliert. Sowohl für den LiMAx- als auch den ICG-Test ergaben sich signifikante Korrelationen, jedoch für den LiMAx-Test ein sehr hohes $r^2 = 0,88$ ($p < 0,001$), für den ICG-Test nur ein $r^2 = 0,39$ ($p = 0,0015$) und für FVII ein $r^2 = 0,26$ ($p = 0,015$). Die Einzelwerte und die Korrelationsgeraden sind in der Abbildung 25, Abbildung 26 und Abbildung 27 dargestellt.

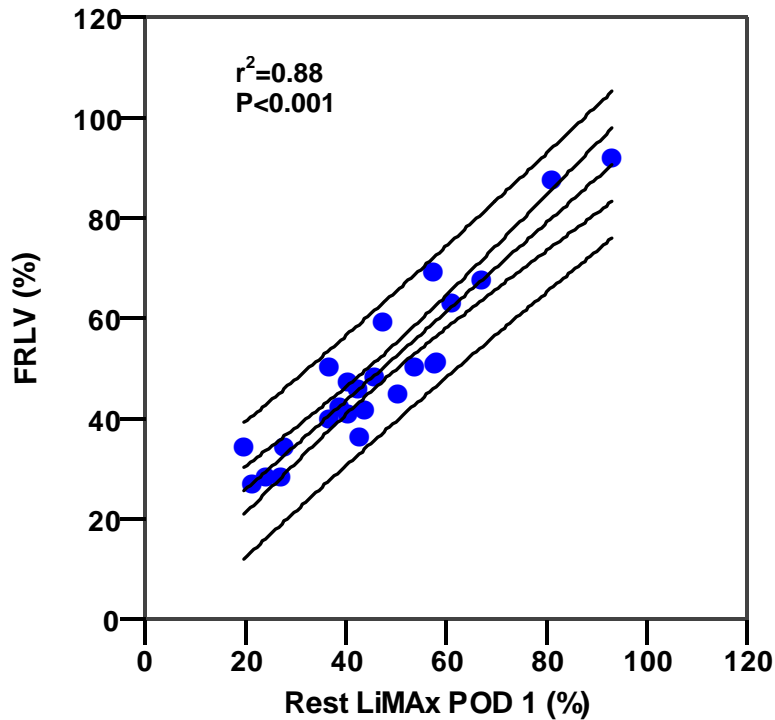


Abbildung 25. Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-LiMax.

Dargestellt ist die Regressionsgerade mit mittlerem und individuellem 95% Konfidenzintervall.

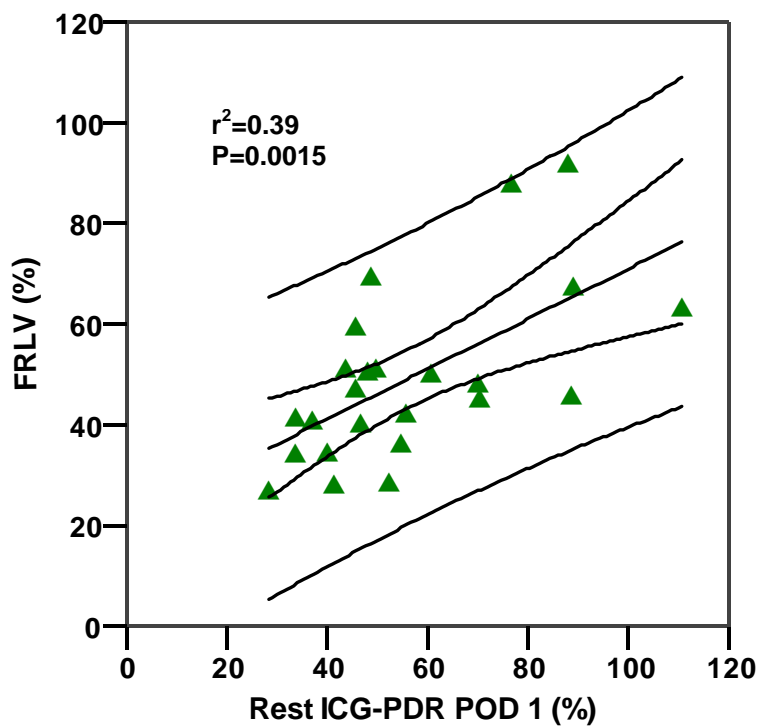


Abbildung 26. Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-ICG.

Dargestellt ist die Regressionsgerade mit mittlerem und individuellem 95% Konfidenzintervall.

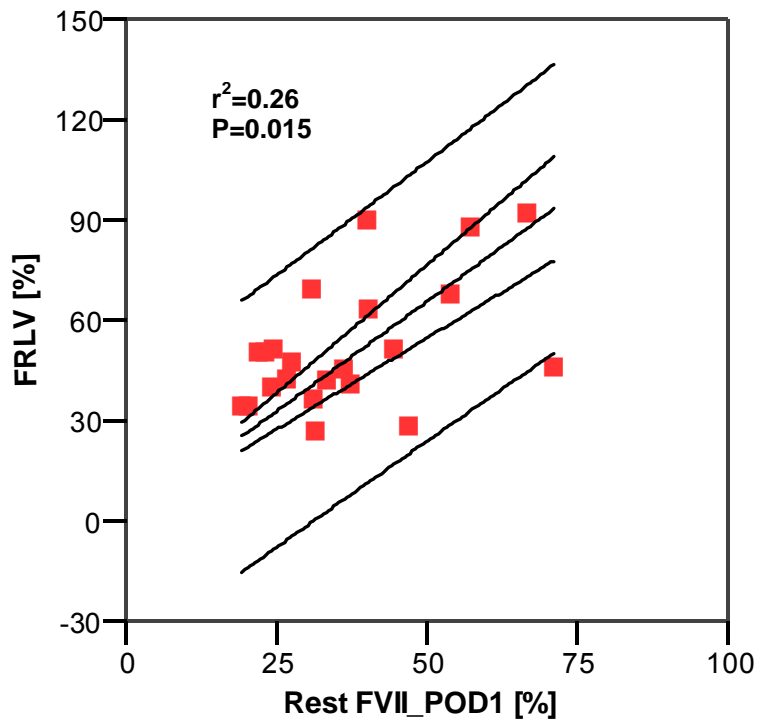


Abbildung 27. Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-Faktor VII (FVII).

Dargestellt ist die Regressionsgerade mit mittlerem und individuellem 95% Konfidenzintervall.

Für weitere analysierte Parameter ergaben sich ausschließlich schlechtere Korrelationen. Statistisch bedeutet der Unterschied im Korrelationskoeffizienten zwischen LiMAX-Test ($r^2 = 0,88$), ICG-Test ($r^2 = 0,39$) und Faktor VII ($r^2 = 0,26$), das beim LiMAX-Test eine individuelle Vorhersage eines Einzelwertes hinreichend genau möglich ist, wohingegen der ICG-Test und FVII diese individuelle Vorhersage nicht ausreichend genau erlauben.

4.8 Wertigkeit des LiMax-Test in der Leberchirurgie

4.8.1 Ergebnisse (Outcome) nach Leberteilresektion

Die Details der Patientencharakteristika der 64 untersuchten Personen sind unter 3.11.1 (Seite 38ff) dargestellt. Die Operationszeit (Schnitt-Naht-Zeit) für die Leberteilresektion betrug im Mittel 307 ± 91 min, wobei es große Unterschiede gab (Range 132-511 min). Durchschnittlich wurden $1,01 \pm 1,67$ Erythrozytenkonzentrate und $2,43 \pm 2,90$ Frischplasma-Einheiten, wobei bei der überwiegenden Anzahl der Patienten gar keine Transfusionen erfolgten (Tabelle 7).

A Erythrozytenkonzentrate intraoperativ

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	,00	39	60,9	63,9	63,9
	1,00	4	6,3	6,6	70,5
	2,00	9	14,1	14,8	85,2
	4,00	8	12,5	13,1	98,4
	8,00	1	1,6	1,6	100,0
	Total	61	95,3	100,0	
Missing	System	3	4,7		
Total		64	100,0		

B Frischplasmaeinheiten intraoperativ

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	,00	30	46,9	49,2	49,2
	1,00	1	1,6	1,6	50,8
	2,00	7	10,9	11,5	62,3
	4,00	9	14,1	14,8	77,0
	6,00	7	10,9	11,5	88,5
	7,00	3	4,7	4,9	93,4
	8,00	3	4,7	4,9	98,4
	10,00	1	1,6	1,6	100,0
	Total	61	95,3	100,0	
Missing	System	3	4,7		
Total		64	100,0		

Tabelle 7. Anzahl der intraoperativ verabreichten Erythrozytenkonzentrate (A, EK) und Frischplasma-Einheiten (B, FFP) nach Frequenz.

Deutlich zu erkennen ist, dass eine große Anzahl überhaupt keine EK (n=39) oder FFP (n=30) erhalten haben.

4.8.1.1 Mortalität

Zehn Patienten (15,6 %) verstarben während der Nachbeobachtungszeit von 6 Monaten. Die Mediane Zeit bis zum Tod war 30 Tage (Range 0-185 Tage). In allen Todesfällen wurde eine große, erweiterte Leberteilresektion durchgeführt. In Tabelle 8 A und B sind im Vergleich zu den nicht verstorbenen Patienten die OP-Zeit und die intraoperativen Transfusionen dargestellt. Im direkten (univariaten) Vergleich (Oneway-ANOVA) zeigt sich für die Transfusionen auch ein signifikanter Unterschied.

A		Descriptives								
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
						Lower Bound	Upper Bound			
OPZeit	tot	10	348,7000	57,86968	18,30000	307,3025	390,0975	264,00	451,00	752,43679
	nicht tot	54	299,0926	94,16751	12,81457	273,3898	324,7954	132,00	511,00	
	Total	64	306,8438	90,92841	11,36605	284,1305	329,5570	132,00	511,00	
	Model									
	Fixed Effects			89,81330	11,22666	284,4020	329,2855			
	Random Effects				26,07831	-24,5126	638,2001			
EK_IntraOP	tot	10	2,0000	1,63299	,51640	,8318	3,1682	,00	4,00	,53248
	nicht tot	51	,8235	1,63347	,22873	,3641	1,2830	,00	8,00	
	Total	61	1,0164	1,67821	,21487	,5866	1,4462	,00	8,00	
	Model									
	Fixed Effects			1,63340	,20914	,5979	1,4349			
	Random Effects				,65594	-7,3181	9,3509			
FFP_IntraOP	tot	10	4,7000	2,21359	,70000	3,1165	6,2835	,00	7,00	3,24902
	nicht tot	51	1,9804	2,82482	,39555	1,1859	2,7749	,00	10,00	
	Total	61	2,4262	2,90091	,37142	1,6833	3,1692	,00	10,00	
	Model									
	Fixed Effects			2,74041	,35087	1,7241	3,1283			
	Random Effects				1,57528	-17,5896	22,4421			

B		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
OPZeit	Between Groups	20763,80	1	20763,800	2,574	,114
	Within Groups	500118,6	62	8066,430		
	Total	520882,4	63			
EK_IntraOP	Between Groups	11,572	1	11,572	4,337	,042
	Within Groups	157,412	59	2,668		
	Total	168,984	60			
FFP_IntraOP	Between Groups	61,838	1	61,838	8,234	,006
	Within Groups	443,080	59	7,510		
	Total	504,918	60			

Tabelle 8. Vergleich der Unterschiede in OP-Zeit und intraoperativen Transfusionen (EK und FFP) zwischen verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten.

In A sind die deskriptiven Daten dargestellt und in B der Oneway-ANOVA Test zwischen den beiden Gruppen.

In fünf Fällen (4,7 %) war ein postoperatives Leberversagen (PLF) die Todesursache. Diese hohe Anzahl an PLF ist begründet durch den hohen Anteil an erweiterten, ausgedehnten Leberteilresektionen (50% Trisektorektomien, 28% Hemihepatektomie

rechts). In weiteren drei Patienten war die Todesursache eine schwere postoperative Infektion mit folgendem septischen Multiorganversagen. Ein weiterer Patient verstarb direkt postoperativ an einem fulminanten Herzinfarkt noch am OP-Tag. Ein Patient hatte initial eine gute postoperative Leberfunktion in allen Tests und Parametern und wurde planmäßig auf Normalstation verlegt. Hier entwickelte er allerdings im Verlauf über 3 Monate ein langsam zunehmendes Leberversagen, das auf einer narbigen Ausfluss-Stenose der verbliebenen linken Lebervene beruhte. Diese ungewöhnliche Diagnose wurde bildgebend und in einer Revisionsoperation gesichert und revidiert, der Patient erholte sich aber nicht mehr und verstarb im weiteren Verlauf.

4.8.1.2 Komplikationen - Morbidität

Einen unauffälligen, regulären postoperativen Verlauf ohne schwere Komplikationen (\leq Grade II, vgl. Tabelle 5. Klassifikation chirurgischer Komplikationen.) hatten 34 Patienten (53 %), sie entwickelten keine schweren Komplikationen und konnten die Intensivstation im Median nach einen Tag verlassen (Range 1-12 Tage). Zwei Patienten, die länger auf der Intensivstation verblieben, hatten eine länger andauernde Aszites-Produktion bzw. einen generell schlechten Allgemeinzustand. Allerdings benötigten Beide keine invasiven Interventionen (\leq Grade II) und erholten sich im weiteren Verlauf vollständig. Schwere postoperative Komplikationen (\geq Grade IIIa) einschließlich Tod erlitten 30 Patienten. Dies führte auch zu einem verlängerten Intensivaufenthalt (Median 9 Tage, Range 1-153). Die häufigsten Komplikationen waren Galleleck (13 Fälle, 20 %), Peritonitis (6 Fälle, 9 %), interventionsbedürftige Pleuraergüsse (4 Fälle, 6 %) und schwere Blutungen (3 Fälle, 5 %). Eine schwere Leberinsuffizienz (Definition siehe Seite 44) trat bei 9 Patienten (14 %) auf, was ebenfalls zu einem verlängerten Intensivaufenthalt führte (Median 14 Tage, Range 8-153). Einen Gesamtüberblick gibt Tabelle 9.

Komplikationen	Anzahl	Prozent
Keine	23	36 %
Grade I	7	11 %
Grade II	4	6 %
Grade III	17	26 %
Grade IV	3	5 %
Grade V = Tod	10	16 %
Galleleck	13	20 %
Peritonitis	6	9 %
Pleuraerguss (interventionsbed.)	4	6 %
Schwere Blutung	3	5 %
Schwere Leberinsuffizienz	9	14 %

Tabelle 9. Komplikationen nach Leberteileresektion bei 64 Patienten.

In der oberen Hälfte sind die Komplikationen nach der Klassifikation von Dindo et al. (58), in der unteren Hälfte die wesentlichen einzelnen Komplikationen aufgelistet.

4.8.2 Prädiktiver Wert des LiMAX-Testes für Mortalität und Morbidität nach Leberteileresektion

4.8.2.1 LiMAX und andere Laborwerte im Verlauf nach Leberteileresektion

In Tabelle 10 sind die Daten der LiMAX-Werte im Verlauf wiedergegeben. Nach der Leberteileresektion fällt der präoperativ im Mittel im Referenzbereich gelegenen LiMAX-Wert (vgl. 4.6, Seite 57) zunächst deutlich ab, um sich dann im Verlauf wieder zu erholen. Der Abfall zum ersten postoperativen Tag (POD 1) ist sehr deutlich, da bei einem erheblichen Teil von 50% der Patienten eine Trisektorektomie mit regelhaft großen Resektatvolumina und kleinem FRLV durchgeführt wurde. Bemerkenswert ist, dass der Minimalwert am POD 1 direkt nach der Operation registriert wird und nicht wie bei allen bekannten Laborparametern erst Tage später der jeweils schlechteste Wert auftritt. Als Vergleich ist in Tabelle 11 der INR (international normalized ratio)-Gerinnungswert, der erst am 2. POD seinen Talwert erreicht. Dagegen fällt die Pseudocholinesterase (PCHE) am ehesten wegen Ihrer langen Halbwertszeit (59) bis

zum 10. POD weiter ab (Tabelle 12). Dagegen zeigt der Gerinnungsfaktor VII (FVII) Aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit von nur wenigen Stunden auch einen schnellen Abfall mit einem Talwert am 1. POD (Tabelle 13). Die Analyse der FVII ist allerdings ungenau, nicht jederzeit verfügbar und abhängig von Substitutionen und Verlusten, wie es auch für alle anderen Laborwerte gilt.

Die Tabelle 14 auf Seite 69 gibt eine Korrelationsanalyse für den LiMAx-Wert zwischen den einzelnen Messtagen wieder. Leicht ersichtlich wird, dass postoperativ (ab POD 1) die initial gemessenen Werte jeweils mit den benachbarten POD's sehr gut korrelieren, insbesondere bei POD 1-5. Diese Analyse ist damit gleichzeitig ein Beweis für die hohe Wiederholgenauigkeit des LiMAx-Testes.

		LiMax präOP	LiMax POD 1	LiMax POD 2	LiMax POD 3	LiMax POD 5	LiMax POD 10	LiMax POD 85
N	Gültig	64	60	63	63	60	58	45
	Fehlend	0	4	1	1	4	6	19
Mittelwert		367	130	131	152	194	248	324
Median		346	117	128	131	186	239	320
Std. Abweichung		141	71	62	87	101	132	108
Minimum		123	34	23	20	21	40	136
Maximum		959	419	318	571	597	816	598

Tabelle 10. Deskriptive Analyse der LiMax-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.

Dargestellt sind Mittelwert, Median, Standardabweichung (Std. Abweichung) sowie Minimum und Maximum.

		INR präOP	INR POD 1	INR POD 2	INR POD 3	INR POD 5	INR POD 10	INR POD 85
N	Gültig	63	63	61	62	61	58	43
	Fehlend	1	1	3	2	3	6	21
Mittelwert		1,08	1,55	1,65	1,52	1,37	1,33	1,14
Median		1,05	1,50	1,58	1,47	1,31	1,29	1,09
Std. Abweichung		,13	,25	,32	,33	,23	,30	,23
Minimum		,86	1,14	1,17	1,05	,99	,90	,94
Maximum		1,59	2,21	2,54	2,51	2,15	2,46	2,28

Tabelle 11. Deskriptive Analyse der INR (international normalized ratio)-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.

Dargestellt sind Mittelwert, Median, Standardabweichung (Std. Abweichung) sowie Minimum und Maximum.

		PCHE präOP	PCHE POD 1	PCHE POD 2	PCHE POD 3	PCHE POD 5	PCHE POD 10	PCHE POD 85
N	Gültig	61	63	62	62	61	61	44
	Fehlend	3	1	2	2	3	3	20
Mittelwert		6,2	5,0	4,6	4,4	3,9	3,1	5,9
Median		6,6	5,0	4,7	4,3	3,8	3,0	6,0
Std. Abweichung		2,4	1,6	1,5	1,5	1,4	1,4	1,9
Minimum		0,9	2,1	1,9	1,6	1,1	0,4	1,1
Maximum		10,9	10,1	8,5	8,1	7,9	7,0	9,3

Tabelle 12. Deskriptive Analyse der Pseudocholinesterase (PCHE)-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.

Dargestellt sind Mittelwert, Median, Standardabweichung (Std. Abweichung) sowie Minimum und Maximum.

		FVII präOP	FVII POD 1	FVII POD 2	FVII POD 3	FVII POD 5	FVII POD 10	FVII POD 85
N	Gültig	62	62	60	61	59	59	42
	Fehlend	2	2	4	3	5	5	22
Mittelwert		94	38	40	46	53	63	91
Median		93	33	36	46	53	59	94
Std. Abweichung		21	17	16	17	16	25	21
Minimum		50	15	15	13	13	11	21
Maximum		149	85	82	91	90	118	125

Tabelle 13. Deskriptive Analyse der Faktor VII (FVII)-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.

Dargestellt sind Mittelwert, Median, Standardabweichung (Std. Abweichung) sowie Minimum und Maximum.

Korrelationen

		LiMAx präOP	LiMAx POD 1	LiMAx POD 2	LiMAx POD 3	LiMAx POD 5	LiMAx POD 10	LiMAx POD 85
LiMAx präOP	Pearson Correlation	1	,367**	,188	,022	,035	-,028	,318*
	Sig. (2-tailed)		,004	,141	,863	,791	,835	,033
	N	64	60	63	63	60	58	45
LiMAx POD 1	Pearson Correlation	,367**	1	,848**	,745**	,621**	,682**	,467**
	Sig. (2-tailed)	,004		,000	,000	,000	,000	,002
	N	60	60	60	60	57	55	42
LiMAx POD 2	Pearson Correlation	,188	,848**	1	,806**	,719**	,649**	,351*
	Sig. (2-tailed)	,141	,000		,000	,000	,000	,018
	N	63	60	63	63	60	58	45
LiMAx POD 3	Pearson Correlation	,022	,745**	,806**	1	,834**	,747**	,337*
	Sig. (2-tailed)	,863	,000	,000		,000	,000	,024
	N	63	60	63	63	60	58	45
LiMAx POD 5	Pearson Correlation	,035	,621**	,719**	,834**	1	,693**	,404**
	Sig. (2-tailed)	,791	,000	,000	,000		,000	,008
	N	60	57	60	60	60	56	42
LiMAx POD 10	Pearson Correlation	-,028	,682**	,649**	,747**	,693**	1	,329*
	Sig. (2-tailed)	,835	,000	,000	,000	,000		,034
	N	58	55	58	58	56	58	42
LiMAx POD 85	Pearson Correlation	,318*	,467**	,351*	,337*	,404**	,329*	1
	Sig. (2-tailed)	,033	,002	,018	,024	,008	,034	
	N	45	42	45	45	42	42	45

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Tabelle 14. LiMAx: Korrelations-Analyse (Pearson) zwischen allen Zeitpunkten.

Leicht ersichtlich wird, dass postoperativ (ab POD 1) die initial gemessen Werte jeweils mit den benachbarten POD's sehr gut korrelieren, insbesondere bei POD 1-5. Daraus lässt sich auch ableiten, dass die Mess-Wiederholgenauigkeit des LiMAx-Testes sehr hoch ist.

Die graphische Darstellung der LiMAx-Werte im Verlauf als Box-Plot nur der überlebenden Patienten (n=54) zeigt anschaulich, dass nach dem sofortigen Abfall nach der Leberteileresektion an POD 1 kaum eine Änderung am POD 2 eintritt und dann die Leberregeneration einsetzt (Abbildung 28). Am POD 10 ist dann bereits eine deutliche Erholung eingetreten (79% des präoperativen Wertes) und am POD 85 sind bereits 95% des Ausgangswerts erreicht.

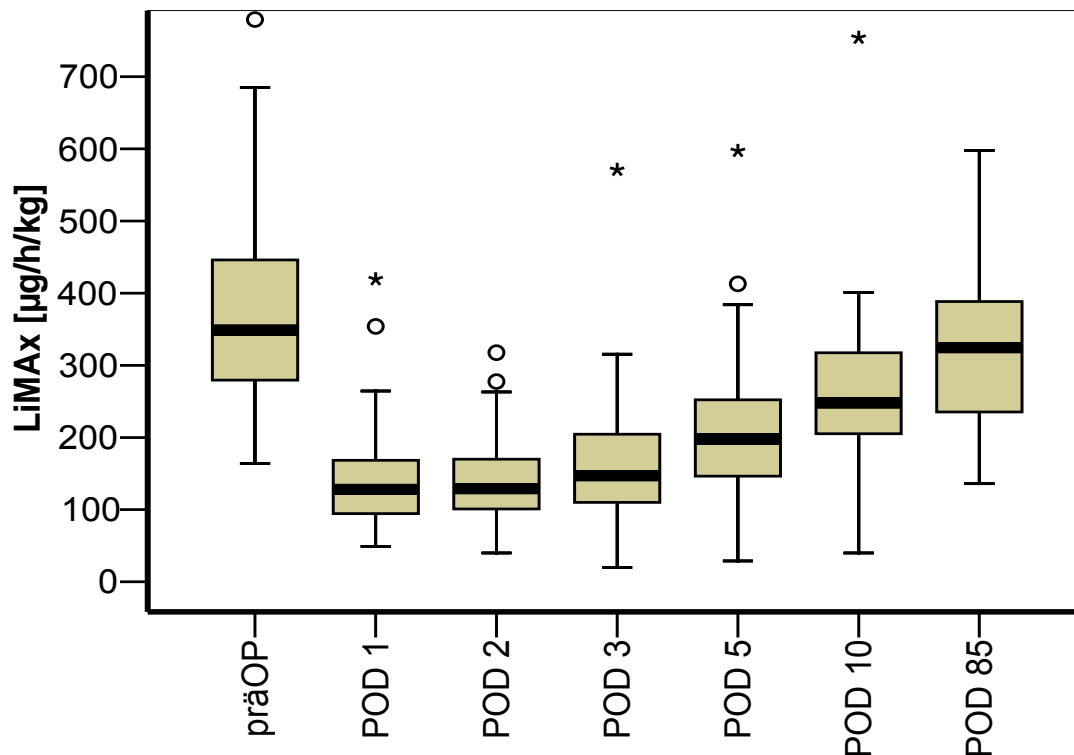


Abbildung 28. Box-Plot der LiMAx-Werte der überlebenden Patienten (n = 54) im Verlauf nach Leberteileresektion.

Noch besser wird der Ablauf der funktionellen Leberregeneration in der zeitlich-linearen Darstellung der LiMAx-Werte als Prozent des präoperativen Wertes (präOP = 100%) deutlich (Abbildung 29). Für eine detaillierte Analyse sind experimentell in der Regel mehr Datenpunkte notwendig, jedoch wird selbst mit den relativ wenigen Messpunkten, die in dieser klinischen Studie erhoben werden konnte, der annähernd sigmoidale Verlauf sichtbar. Das heißt, dass direkt nach der Leberteileresektion zunächst innerhalb von 2 Tagen die Leberregeneration maximal stimuliert wird und dann im weiteren Verlauf langsam wieder herunterreguliert wird.

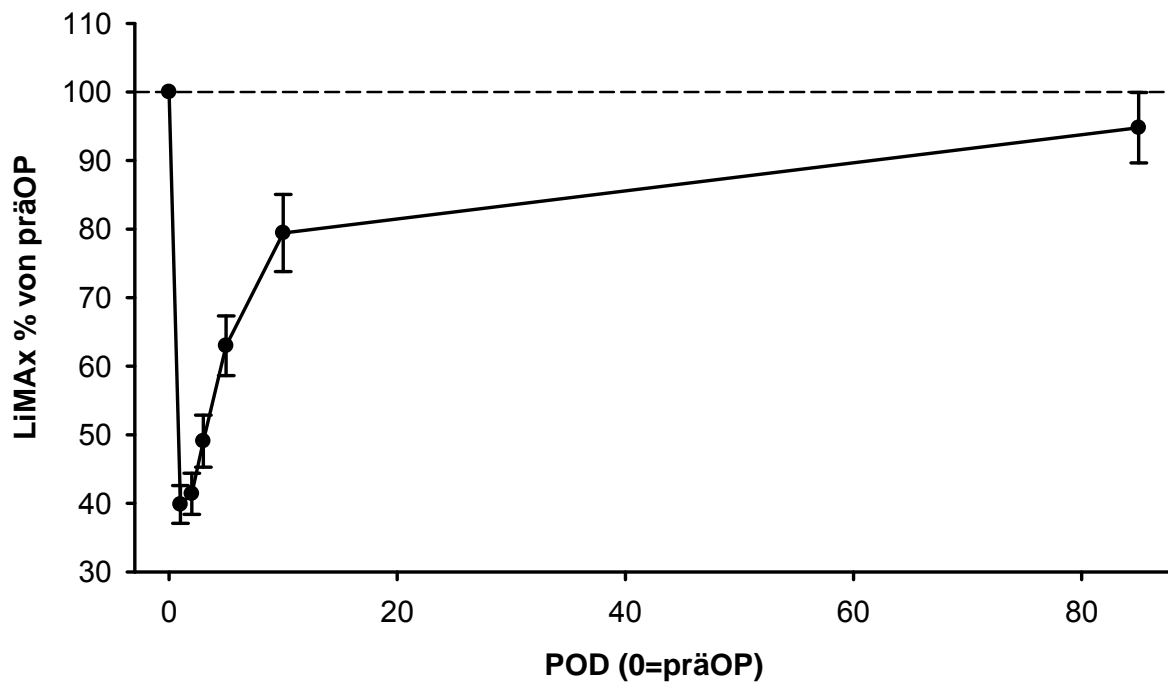


Abbildung 29. Lineare Darstellung des LiMAX-Verlaufes in Prozent des präoperativen Wertes (POD 0=präOP=100%).

Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SEM der überlebenden Patienten ($n = 54$). Referenzlinie bei 100%. POD = postoperativer Tag.

Zusammengenommen erlaubt der LiMAX-Test also auch, direkt am Menschen die Leberregeneration zu beobachten.

4.8.2.2 Zusammenhang zwischen LiMAX und Liegedauer

Die mediane Aufenthaltsdauer aller überlebender Patienten ($n = 54$) auf der Intensivstation (ICU) war zwei Tage (Range 1-90 Tage). Die überwiegende Mehrzahl der Patienten ($n = 38$, 70%) verließ die Intensivstation wieder bis zum dritten Tag. Den Zusammenhang zwischen LiMAX und Intensiv-Aufenthaltsdauer gibt graphisch die Abbildung 30 wieder. Auf den ersten Blick zu erkennen ist, dass bei sehr niedrigem LiMAX-Wert am POD 1 die Intensivliegedauer stark ansteigt. Da im Gegensatz zum LiMAX die Intensivtage nicht normalverteilt waren (Ein-Stichproben Kolmogorov-Smirnov Test lehnt Normalverteilung ab, $p < 0,0001$) wurde eine nichtparametrische Korrelationsanalyse (Spearman's rho) durchgeführt, die ein $r = -0,41$ ($p = 0,003$) ergab.

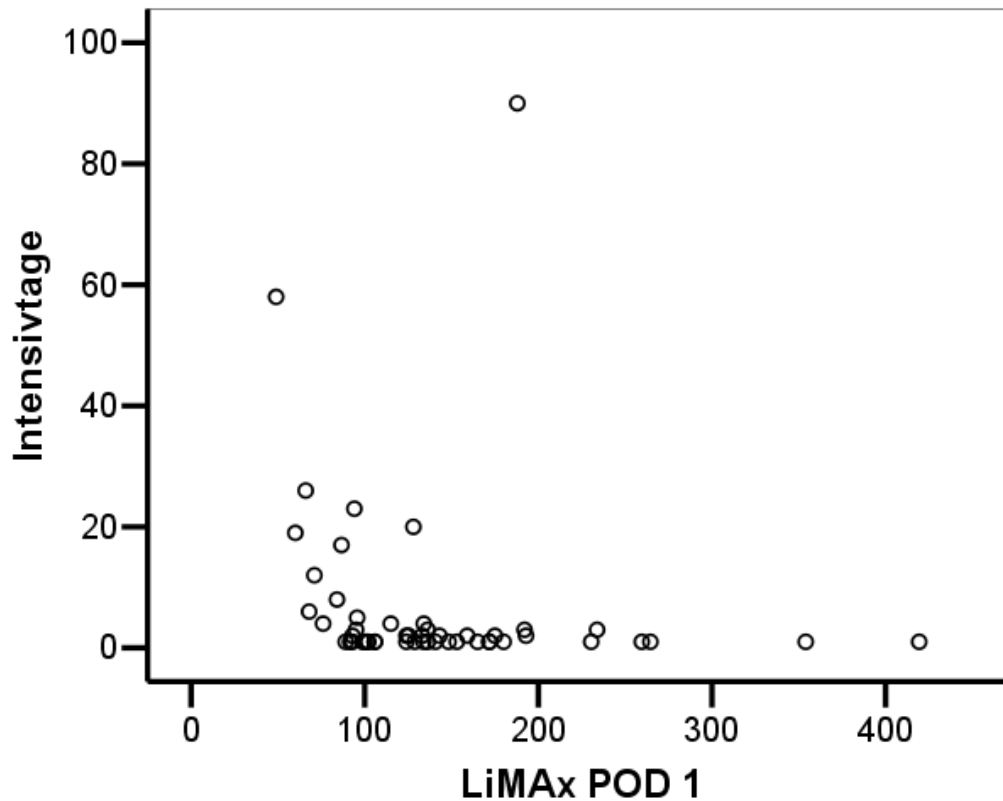


Abbildung 30. Zusammenhang zwischen Intensivtagen und LiMAX am POD1.

Die nichtparametrische Korrelationsanalyse (Spearman's rho) ergab ein $r = 0,41$ ($p=0,003$).

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt: Patienten mit 0-3 Intensivtagen (Variable ICU3 = 0) und mehr als 3 Intensivtagen (ICU3 = 1). Die Patienten mit 3 und weniger Intensivtagen hatten bei der ersten postoperativen Messung einen LiMAX POD 1 von $159 \pm 73 \mu\text{g/h/kg}$ im Vergleich zu $94 \pm 37 \mu\text{g/h/kg}$ bei Patienten mit mehr als 3 Intensivtagen ($p = 0,003$, Oneway ANOVA). Um Anhand des LiMAX POD 1 eine Vorhersage für die Intensivtage treffen zu können, wurde zunächst eine „receiver operating characteristics“ (ROC)-Analyse durchgeführt. Diese erlaubt einerseits festzustellen, ob die untersuchte Variable (in diesem Fall LiMAX) eine Vorhersagekraft für die Zuordnung einer dichotomen Variable (hier ICU3) hat. Das statistische Maß hierfür ist die Fläche unter der ROC-Kurve (AUROC). Abbildung 31 zeigt die ROC-Kurve für LiMAX POD und ICU3. Der AUROC wert ist mit 0,846 (95% Konfidenzintervall (CI) 0,714 - 0,977) hochsignifikant ($p<0,0001$). Damit ist der LiMAX-Test am POD 1 gut zur Unterscheidung geeignet. An der Stelle der höchsten Summe

von Sensitivität und Spezifität bei möglichst hoher Spezifität wurde ein Schwellenwert (Cutoff) für den LiMAx POD 1 von 90 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ gewählt.

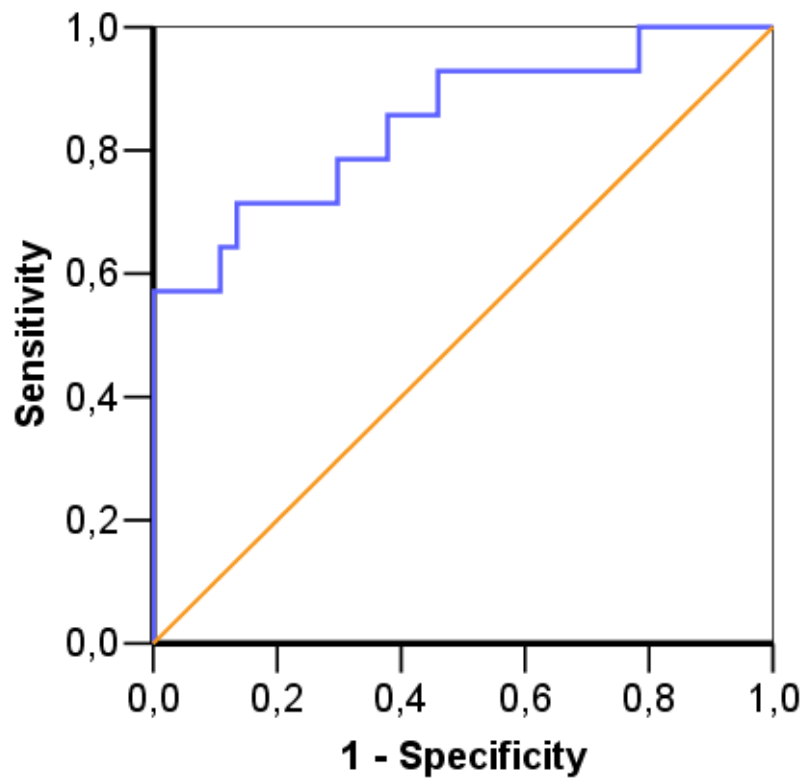


Abbildung 31. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit ICU3.

AUROC 0,846 (95% CI 0,714 - 0,977), $p < 0,0001$.

Mit dem erhaltenen Schwellenwert von LiMAx POD 1 von 90 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ konnten nun Anhand einer Kreuztabelle die Gütekriterien für den frühpostoperativen LiMAx-Test zur Vorhersage des weiteren Intensivverlaufes der Patienten abgelesen werden (Tabelle 15).

			ICU3		Total
			,00	1,00	
LiMAx90	,00	Count	37	8	45
		% within LiMAx90	82,2%	17,8%	100,0%
		% within ICU3	97,4%	50,0%	83,3%
	1,00	Count	1	8	9
		% within LiMAx90	11,1%	88,9%	100,0%
		% within ICU3	2,6%	50,0%	16,7%
Total		Count	38	16	54
		% within LiMAx90	70,4%	29,6%	100,0%
		% within ICU3	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 15. Kreuztabelle zwischen LiMAx POD 1 und ICU3.

LiMAx POD 1 $\geq 90 \mu\text{g/h/kg}$ = 0, $< 90 \mu\text{g/h/kg}$ = 1; ICU3 = 0: Intensivaufenthalt ≤ 3 Tage, ICU3 = 1: Intensivaufenthalt > 3 Tage; Rote Box: Negativer prädiktiver Wert; Grüne Box: Positiver prädiktiver Wert.

Ein negativer prädiktiver Wert (NPV) von 82,2 % bedeutet hier, dass nur 17,8 % der Patienten, die am POD 1 einen LiMAx von $90 \mu\text{g/h/kg}$ oder mehr hatten länger als 3 Tage auf der Intensivstation verweilten. Dagegen zeigt der positive prädiktive Wert (PPV) von 88,9 %, dass tatsächlich fast 90 % der Patienten mit einem LiMAx von unter $90 \mu\text{g/h/kg}$ am POD 1 länger als 3 Tage auf der Intensivstation verblieben.

Patienten, die nicht verstarben ($n = 54$), verließen das Krankenhaus im Median 19,5 Tage (Range 8-143 Tage) nach der Operation. Wenn postoperativ überhaupt keine Komplikationen auftraten ($n = 23$), konnte das Krankenhaus bereits nach 15 Tagen (Range 8 – 26 Tage) verlassen werden. Auch für die gesamte postoperative Aufenthaltsdauer im Krankenhaus zeigte sich, bis auf POD 1, eine signifikante Korrelation mit dem LiMAx-Test (Tabelle 16).

		LiMAx POD 1	LiMAx POD 2	LiMAx POD 3	LiMAx POD 5
Spearman's rho					
Aufenthaltsdauer	r =	-0,166	-0,300	-0,367	-0,445
	p =	0,244	0,028	0,006	0,001
	n =	51	54	54	51

Tabelle 16. Korrelationsanalyse zwischen der Krankenhausaufenthaltsdauer und LiMAx an unterschiedlichen Tagen.

r = Korrelationskoeffizient, p = Signifikanz, n = Patientenzahl.

Bis hin zum POD 5 nahm hier der Korrelationskoeffizient zu. Dies bedeutet, dass mit zunehmendem Abstand zur Operation klarer wird, welche Patienten durch eine Leberinsuffizienz oder ein anderes septisches Problem einen problematischen Verlauf einschlagen und welche nicht.

4.8.2.3 Vorhersagewert des LiMAx-Testes für Leberversagen, schwere Leberinsuffizienz und schwere Komplikationen

Um die Einflussfaktoren für die Entstehung eines postoperativen Leberversagens (=Tod durch Leberinsuffizienz), einer schweren Leberinsuffizienz und schwerer Komplikationen (Definitionen siehe Seite 44) zu untersuchen, wurden zunächst alle aus der Literatur bekannten Einflussfaktoren in eine univariate Analyse einbezogen. Daran schloss sich dann ebenfalls unter Einschluss aller Variablen eine multiple logistische Regressionsanalyse an. Die logistische Regressionsanalyse wurde in allen Fällen im Verfahren „schrittweise vorwärts“, „schrittweise rückwärts“ und „Einschluss“ durchgeführt und ergaben jeweils konsistente Ergebnisse.

In den folgenden Tabellen sind die univariaten Analysen für Leberversagen (Tabelle 17), schwere Leberinsuffizienz (Tabelle 18) und schwere Komplikationen (Tabelle 19) aufgelistet. Die sogenannten 50-50-criteria wurden wie von Balzan et al. beschrieben berechnet (positiv: Bilirubin über 50 µmol/ml und Quick unter 50% am POD 5) (60). Der Fibrose-Score wurde nach Desmet und Scheuer wie unter 3.11.3 beschrieben bestimmt (55).

Univariate Analyse - Leberversagen		p
Variablen	LiMAx präOP	,289
	LiMAx POD 1	,005
	ICG-PDR POD 1	,003
	Bilirubin total präOP	,005
	OP-Zeit	,071
	Bluttransfusionen	,075
	Atypische Leberteilres.	,339
	Hemihepatektomie re.	,246
	Hemihepatektomie li.	,257
	Trisektorektomie	,112
	Alter	,138
	BMI	,235
	Rauchen anamnestisch	,128
	Alkoholkonsum	,690
	Intraop. Ischämie	,418
	Postop. Galleleckage	,342
	Thrombozyten präOP	,074
	50-50 Criteria	,127
	Fibrose_Score = 0	,356
	Fibrose_Score = 1	,690
	Fibrose_Score = 2	,966
	Fibrose_Score = 3	,127
	Fibrose_Score = 4	,489

Tabelle 17. Univariate Analyse der Risikofaktoren für ein Leberversagen nach Leberteilresektion.

p = univariate Signifikanz.

Univariate Analyse - schwere Leberinsuffizienz		p
Variablen	LiMAx präOP	,922
	LiMAx POD 1	,002
	ICG-PDR POD 1	,002
	Bilirubin total präOP	,075
	OP-Zeit	,030
	Bluttransfusionen	,588
	Atypische Leberteilectres.	,208
	Hemihепatektomie re.	,324
	Hemihепatektomie li.	,290
	Trisektorektomie	,038
	Alter	,478
	BMI	,566
	Rauchen anamnestisch	,189
	Alkoholkonsum	,911
	Intraop. Ischämie	,565
	Postop. Galleleckage	,790
	Thrombozyten präOP	,070
	50-50 Criteria	,085
	Fibrose_Score = 0	,354
	Fibrose_Score = 1	,495
	Fibrose_Score = 2	,372
	Fibrose_Score = 3	,860
	Fibrose_Score = 4	,085

Tabelle 18. Univariate Analyse der Risikofaktoren für eine schwere Leberinsuffizienz nach Leberteilectresektion.

p = univariate Signifikanz.

Univariate Analyse - schwere Komplikationen		p
Variablen	LiMAx präOP	,884
	LiMAx POD 1	,003
	ICG-PDR POD 1	,001
	Bilirubin total präOP	,046
	OP-Zeit	,000
	Bluttransfusionen	,007
	Atypische Leberteilres.	,028
	Hemihepatektomie re.	,016
	Hemihepatektomie li.	,853
	Trisektorektomie	,006
	Alter	,831
	BMI	,296
	Rauchen anamnestisch	,926
	Alkoholkonsum	,906
	Intraop. Ischämie	,110
	Thrombozyten präOP	,333
	50-50 Criteria	,115
	Fibrose_Score = 0	,959
	Fibrose_Score = 1	,873
	Fibrose_Score = 2	,906
	Fibrose_Score = 3	,853
	Fibrose_Score = 4	,524

Tabelle 19. Univariate Analyse der Risikofaktoren für schwere Komplikationen nach Leberteilresektion.

p = univariate Signifikanz.

Die Ergebnisse der sich anschließenden logistischen Regressionsanalyse sind in Tabelle 20 dargestellt.

	Univariat p=	Multivariat p=	OR	95% CI
Leberversagen				
Bilirubin total präOP	.004	Excluded		
ICG-PDR POD 1	.003	Excluded		
LiMAx POD 1	.006	.005	.954	.923 - .986
Schwere Leberinsuffizienz				
Trisektorektomie	.02	Excluded		
Operationszeit	.035	Excluded		
ICG-PDR POD 1	.002	Excluded		
LiMAx POD 1	.002	.003	.92	.88 - .97
Schwere Komplikationen				
Trisektorektomie	.005	Excluded		
Intraoperative Bluttransfusionen	.010	Excluded		
ICG-PDR POD 1	.001	Excluded		
BMI	.258	.033	.81	.67 - .98
Operationszeit	<.001	.023	1.01	1.0 - 1.02
LiMAx POD 1	.002	.025	.95	.92 - .98

Tabelle 20. Multivariate logistische Regressions-Analyse für Leberversagen, schwere Leberinsuffizienz und schwere Komplikationen.

Aufgeführt sind die signifikanten p-Werte der univariaten Analysen, die p-Werte der multivariaten logistischen Regression, in die alle Variablen eingeschlossen wurden und die Odds-Ratio (OR) mit 95 % Konfidenzintervall (CI). Excluded = Ausgeschlossen bei der logistischen Regressionsanalyse.

Der einzige signifikante Faktor für die Entstehung eines postoperativen Leberversagens oder einer postoperativen Leberinsuffizienz ist der LiMAx am POD 1. Schwere (allgemeine) Komplikationen haben als signifikanten Risikofaktor den Body-Mass-Index (BMI), die Operationszeit und ebenfalls den LiMAx an POD 1.

Um nun praktikable Schwellenwerte (Cutoff-Werte) zu bestimmen wurde jeweils für die LiMAx-Werte an POD 1-3 und 5 gegenüber den dichotomen Variablen Leberversagen, schwere Leberinsuffizienz und schwere Komplikationen eine ROC-Analyse durchgeführt. In Abbildung 32 bis Abbildung 34 sind die ROC-Plots für jeweils den diagnostisch wichtigen POD 1 abgebildet. Idealerweise sollte bereits an POD 1 eine hohe Vorhersagekraft des LiMAx-Testes mit günstigen negativen prädiktiven Wert (NPV) und positiven prädiktiven Wert (PPV) vorhanden sein. Dies ist mit sehr hohen AUROC-Werten für die Vorhersage seines Leberversagens oder einer schweren Leberinsuffizienz auch gegeben. Für die Vorhersage von (allgemeinen) schweren Komplikationen liefert der LiMAx-Test alleinig dagegen nicht so günstige Werte.

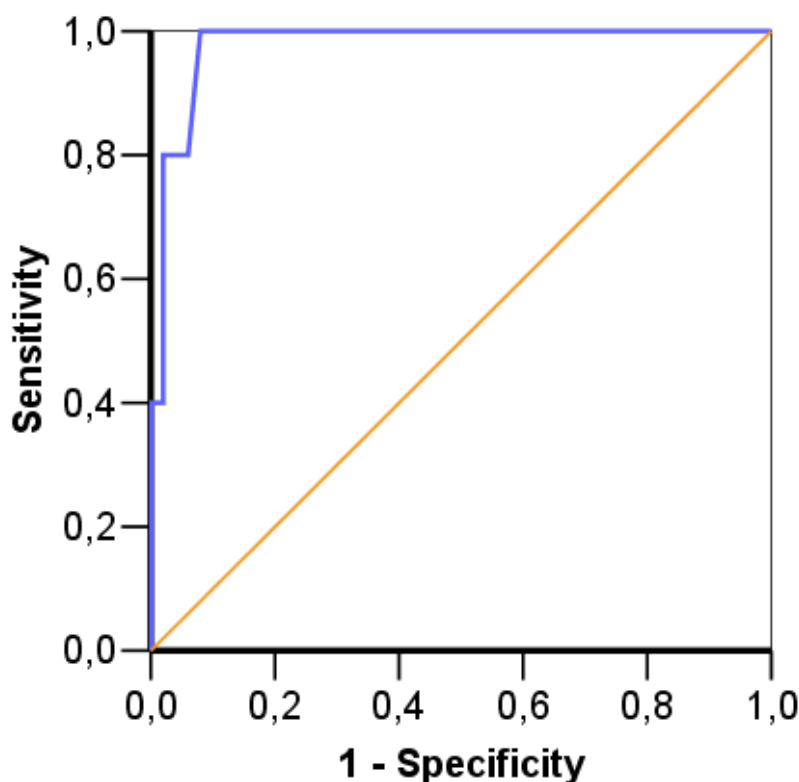


Abbildung 32. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit Leberversagen.

AUROC 0,98 (95% CI 0,94 – 1,0), $p < 0,0001$.

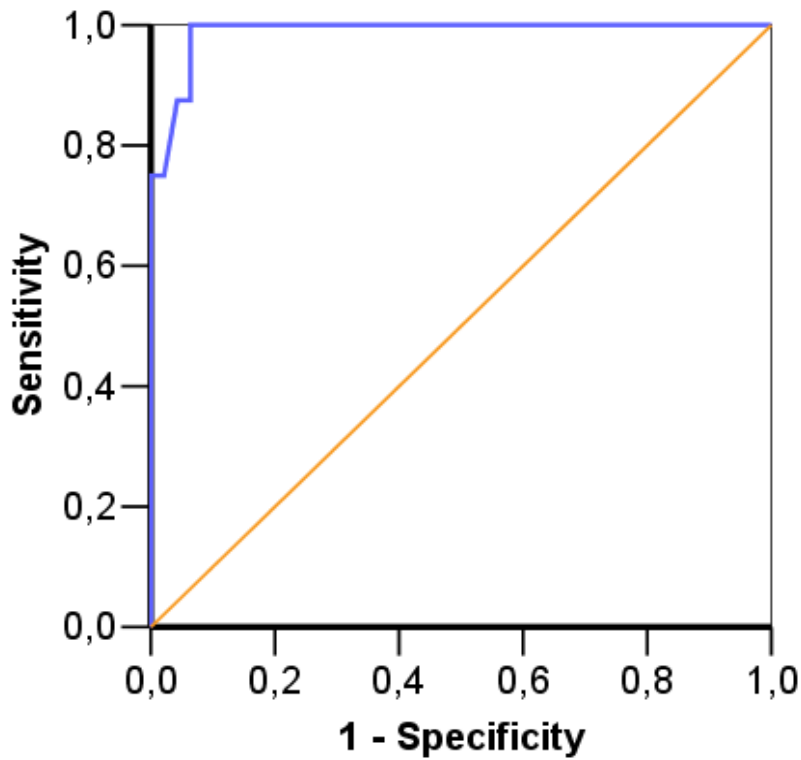


Abbildung 33. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit schwerer Leberinsuffizienz.

AUROC 0,99 (95% CI 0,96 – 1,0), $p < 0,0001$.

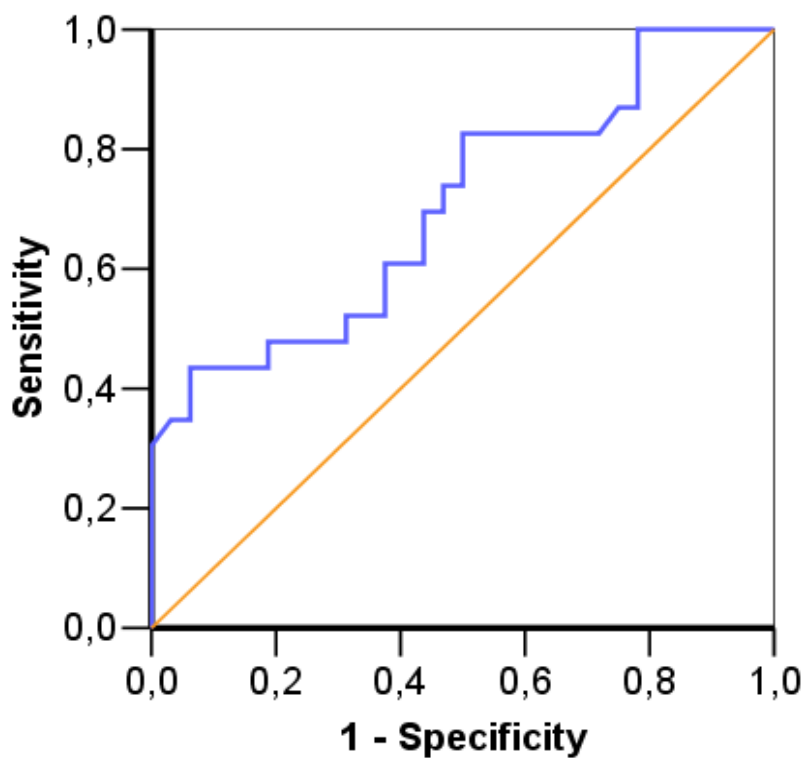


Abbildung 34. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit schweren Komplikationen.

AUROC 0,70 (95% CI 0,56 – 0,85), $p = 0,01$.

In den Tabelle 21 bis Tabelle 23 sind die Einzelwerte der ROC-Analysen von POD 1-3 und 5 einschließlich der klinisch wichtigen NPV- und PPV-Werte aufgelistet.

Leberversagen						
POD	AUROC	Cutoff	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
1	.98 (.94-1.0)	74	100%	92 %	55 %	100 %
2	.98 (.94-1.0)	62	100 %	94 %	56 %	100 %
3	.95 (.87-1.0)	91	100 %	88 %	50 %	100 %
5	.96 (.90-1.0)	116	100 %	90 %	50 %	100 %

Tabelle 21. ROC-Analysen für LiMAX und Leberversagen.

POD = postoperativer Tag, AUROC = Fläche unter der ROC-Kurve, Cutoff = Schwellenwert, PPV = positiver prädiktiver Wert, NPV = negativer prädiktiver Wert.

Schwere Leberinsuffizienz						
POD	AUROC	Cutoff	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
1	.99 (.96-1.0)	85	100 %	94 %	62 %	100 %
2	.98 (.94-1.0)	90	100 %	86 %	47 %	100 %
3	.95 (.90-1.0)	97	100 %	90 %	57 %	100 %
5	.98 (94-1.0)	116	100 %	94 %	58 %	100 %

Tabelle 22. ROC-Analysen für LiMAX und schwere Leberinsuffizienz.

POD = postoperativer Tag, AUROC = Fläche unter der ROC-Kurve, Cutoff = Schwellenwert, PPV = positiver prädiktiver Wert, NPV = negativer prädiktiver Wert.

Schwere Komplikationen (Grade III – V)						
POD	AUROC	Cutoff	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
1	.70 (.56-.85)	136	83 %	50 %	54 %	80 %
2	.72 (.59-.85)	144	79 %	50 %	53 %	77 %
3	.77 (.63-.90)	134	75 %	82 %	67 %	81 %
5	.77 (.63-.91)	150	62 %	85 %	72 %	78 %

Tabelle 23. ROC-Analysen für LiMAX und schwere Komplikationen.

POD = postoperativer Tag, AUROC = Fläche unter der ROC-Kurve, Cutoff = Schwellenwert, PPV = positiver prädiktiver Wert, NPV = negativer prädiktiver Wert.

Im klinischen Einsatz sind insbesondere die NPV- und PPV-Werte von hoher Bedeutung, weil diese bei entsprechend unter (PPV) oder über (NPV) dem Cutoff gelegenen Werten im LiMAX-Test die Wahrscheinlichkeit des zu erwartenden weiteren Verlaufes hinsichtlich des untersuchten Parameters (z.B. Leberversagen) wiedergeben. Die hohen NPV-Werte von 100% speziell am POD 1 für Leberversagen und schwere Leberinsuffizienz bedeuten hier, dass in dieser Studie kein Patient der im LiMAX-Test über 74 µg/h/kg ein Leberversagen erlitt. War der LiMAX sogar über 85 µg/h/kg am POD 1 trat auch keine schwere Leberinsuffizienz auf.

Bei der Vorhersage allgemeiner schwerer Komplikationen liegen die NPV- und PPV-Werte allein für den LiMAX-Test natürlich deutlich niedriger. Wie auch die logistische Regressions-Analyse schon gezeigt hat, ist nicht der LiMAX der alleinige Einflussfaktor, wenn auch ein signifikanter. So kann nichts desto trotz mit 80% Wahrscheinlichkeit (NPV POD 1) vorausgesagt werden, dass keine schwere Komplikation auftritt, wenn der LiMAX an POD 1 über 136 µg/h/kg liegt.

5 Diskussion

5.1 Warum waren bisherige Leberfunktionstests ungeeignet?

Bereits seit Mitte des letzten Jahrhunderts gab es zahlreiche Ansätze Parameter und Tests zur Bestimmung der Leberfunktion zu entwickeln (39, 61-63). Seit dieser Zeit sind mehr als 20 verschiedene so genannte Leberfunktionstests beschrieben worden, die hilfreich in der Beurteilung der Leistungsfähigkeit der Leber sein sollten. Gute Übersichten mit Detailangaben liefern verschiedene Übersichtsarbeiten (4-6, 64). Die beschriebenen Tests gliedern sich grob in drei verschiedene Gruppen:

1. Einfache Surrogatparameter, die im Blut oder einer anderen Körperflüssigkeit bestimmt werden.
2. Transport-Tests, bei denen eine Substanz (meist ein Farbstoff) durch die Leber ausgeschieden wird, aber keine Verstoffwechslung stattfindet.
3. Metabolische Tests, bei denen die Testsubstanz durch die Leber verstoffwechselt wird.
4. Andere Test wie szintigraphische Verfahren.

Eine Übersicht über alle aktuellen in der Literatur beschriebenen Leberfunktionstests gibt Tabelle 24.

Test	Substrat	UW	Verabreichung	Analyse von	Analysemethode	Hepatische Funktion	Leber-Spezifität
Farbstofftests (Transport):							
Indocyaningrün (ICG)-Test	ICG	(+)	i.v.	ICG	Blutanalyse oder „pulse dye densitometry“	Transport	++
Bromsulfophthalein (BSP)-Test	BSP	++	i.v.	BSP	Blutanalyse	Transport, Glutathion-Kopplung	+
Metabolische Tests:							
Aminopyrin-Atemtest	¹³ C-Aminopyrin	++	p.o./ i.v.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Microsomal (CYP1A2?, 2C9?, 3A4?)	++
Phenacetin-Atemtest	¹³ C-Phenacetin	++	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Microsomal (CYP1A2/2E1)	++
Methacetin-Atemtest	¹³ C-Methacetin	0	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Microsomal (CYP1A2)	+++
Caffeine-Atemtest	¹³ C-Caffeine	+	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Microsomal (CYP1A2, 2E1, 3A3, 2B6)	++
Diazepam-Atemtest	¹³ C-Diazepam	+	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Microsomal (CYP2C19, 3A)	++
Erythromycin-Atemtest	¹³ C-Erythromycin	+	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Microsomal (CYP3A4, 3A5, 3A7?)	++
Galactose-Atemtest	¹³ C-Galactose	(+)	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Cytosolisch (Galactokinase)	+
Galactose-Eliminations-Kapazität (GEC)	Galactose	(+)	i.v.	Galactose	Blutanalyse	Cytosolisch (Galactokinase)	+
Phenylalanine-Atemtest	¹³ C-Phenylalanin	(+)	p.o./ i.v.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Cytosolisch (Hydroxylase)	++
α-Ketoisocaproic acid (KICA)-Atemtest	¹³ C-KIKA	(+)	p.o.	¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Mitochondrien (Branched chain α-Ketoacid dehydrogenase complex)	(+)
Methionine-Atemtest	¹³ C-Methionine			¹³ CO ₂	NDIRS/ IRMS	Mitochondrien (Krebs-Zyklus-Enzyme?)	(+)

Tabelle 24, Fortsetzung auf nächster Seite

Fortsetzung

Test	Substrat	UW	Verabreichung	Analyse von	Analysemethode	Hepatische Funktion	Leber-Spezifität
MEGX-Test	Lidocain	+++	i.v.	MEGX	Blutanalyse	Microsomal (CYP1A2, 3A4)	+++
Andere							
Serumgallensäuren	-	0	-	Gallensäuren	Blutanalyse	Unterschiedliche	+
Hippursäure-Quotient	Para-Amino-Benzoe-Säure (PABA)	0	p.o.	Hippursäure-Quotient	Blutanalyse	Unterschiedliche (nicht p450)	+
Asialoglycoprotein Rezeptor Szintigraphie (ASGPR)	99mTc-GSA	++	i.v.	γ -Strahlung	Szintigraphie	Rezeptordichte	++

Tabelle 24. Übersicht über vorgeschlagene Tests zur Bestimmung der Leberfunktion.

UW = unerwünschte Wirkungen.

Zum heutigen Zeitpunkt muss allerdings festgestellt werden, dass nach der entsprechenden Erstbeschreibung kein einziger dieser Tests im klinischen Alltag regelhaft eingesetzt wurde. Diese Einschätzung wird ebenfalls in zahlreichen Publikationen geteilt (4, 5, 9). Die fehlende Verbreitung im Routineeinsatz trotz teilweise guter publizierter Daten hat für die unterschiedlichen Test-Systeme verschiedene Gründe, die aus einer Kombination einer oder mehrerer Faktoren herrühren. Die Tabelle 25 listet diese Faktoren und ihre Relevanz auf.

Nummer	Faktor	Relevanz
1	Der Test misst die Leberfunktionskapazität nicht ausreichend genau.	+++
2	Die Testsubstanz hat Nebenwirkungen	+++
3	Der Test ist von anderen Faktoren außer der Leberfunktion beeinflusst.	++
4	Das Testergebnis liegt nicht sofort vor.	++
5	Der Test dauert zu lange.	+
6	Die Testdurchführung ist nicht praktikabel.	+++

Tabelle 25. Negative Faktoren für die Verbreitung eines Leberfunktionstests.

Ganz wesentlich und eine Grundvoraussetzung für ein effizientes Testverfahren ist, dass die Leberfunktionskapazität durch das gewählte Testverfahren ausreichend genau gemessen wird. Jedoch ist schon dies bei einem Großteil der metabolischen Testsysteme nicht gegeben, denn die allermeisten sind Atemtests mit ^{13}C -markierten Testsubstanzen und die meist orale Verabreichung dieser Testsubstanzen führt zu einem prinzipiell ungenauen Test-System. Bei oralem Einsatz muss das Substrat zunächst den Magen passieren und bis ins Duodenum und proximale Jejunum transportiert werden, um resorbiert werden zu können. Erst dann kann die Substanz über die Pfortader die Leber erreichen. Grundsätzlich kostet dieser Vorgang Zeit und bewirkt eine verzögerte und unvollständige Anflutung in der Leber. Dies ist äußerst variabel und wird von zahlreichen physiologischen und pathologischen Zuständen beeinflusst.

Das speziell in der Leberchirurgie die orale Verabreichung von Testsubstanzen eine erhebliche Rolle für ungenaue Leberfunktionstest ist, konnte in der vorliegenden Arbeit

in den Vorversuchen mit dem oralen ^{13}C -Methacetin Atemtest klar gezeigt werden (4.1, Seite 45f). Im postoperativen Verlauf entstehen durch die häufig vorübergehend vorkommende Darmatonie nicht zu verwertende Ergebnisse, da die zunächst notwendige Resorption der Testsubstanz (^{13}C -Methacetin) nicht zeitgerecht oder gar nicht stattfindet. Hierdurch ist die registrierte Kurve der $^{13}\text{CO}_2$ -Abatmung fälschlich abgeflacht oder steigt gar nicht an (vergleiche Abbildung 16 und Abbildung 17, Seite 48). Eine zuverlässige Aussage über die Leberfunktionskapazität ist in so einer Situation überhaupt nicht möglich. Jedoch ist dieser Effekt in weniger deutlicher Form auch in anderen pathologischen Situationen vorhanden, kann dann aber nicht so leicht erkannt werden. Dies betrifft Erkrankungen mit gestörter Magenentleerung wie bei diabetischer Gastroparese (65) oder insgesamt veränderter Magen-/ Darmmotilität. Auch bei Lebererkrankungen und insbesondere der Leberzirrhose kommt es regelhaft zu einem gestörten intestinalen Transport (66, 67). Daher ist ein oraler Leberfunktionstest grundsätzlich bei einem wichtigen Anwendungsgebiet wie der Leberzirrhose prinzipbedingt ungenau. Ein wesentlicher Punkt bei der Entwicklung eines neuen Testes in dieser Arbeit war daher, eine intravenöse Injektion des Substrates vorzusehen.

Im Folgenden werden einzelne Tests vorgestellt und die Gründe für Ihre Nicht-Verbreitung erläutert.

5.1.1 MEGX-Test

In der Vergangenheit gab es bereits mehrere Ansätze mit intravenös injizierten Testsubstanzen. So lieferte der MEGX-Test, der auf einer intravenösen Injektion von Lidocain und der Bildung des Metaboliten Monoethylglycinexylidide (MEGX) nach 15 min beruht, viel versprechende Ergebnisse im Rahmen der Lebertransplantation (68). Ebenso konnte bei Leberteileresektionen eine Korrelation ($r^2=0,49$) zum Restlebertvolumen gezeigt werden (69). Diese Korrelation ist aber ähnlich schlecht, wie sie in der vorliegenden Arbeit für den Indocyaningrün-Test gefunden wurde ($r^2=0,39$) und erlaubt keine individuelle Interpretation (vgl. 4.7, Seite 59). Ein wesentlicher Nachteil des MEGX-Tests ist weiterhin, dass Lidocain intravenös ein erhebliches Nebenwirkungspotential aufweist (Tabelle 25, Punkt 2). Die in der Fachinformation beschriebenen Nebenwirkungen sind zahlreich und teilweise schwerwiegend (u.a. Herzrhythmusstörungen, Kammerflimmern, Krampfanfällen). Eine breite Anwendung in der Diagnostik bei ansonsten gesunden Patienten verbietet sich deshalb.

5.1.2 Bromsulphothalein-Test

Beim Bromsulphothalein-Test wird der Farbstoff Bromsulphothalein intravenös injiziert. Bromsulphothalein wird an Glutathion gekoppelt in die Galle ausgeschieden, allerdings werden ca. 10% renal eliminiert (70). Der seit Mitte der fünfziger Jahre bekannte Test wird seit langem nicht mehr angewendet. Grund ist hier außer der ungenauen Methode eine beschriebene generelle Anaphylaxie (71).

5.1.3 ICG-Test

Ähnlich ist auch der Indocyaningrün (ICG)-Test ein Test der Transportfunktion der Hepatozyten. ICG wird jedoch größtenteils über die Leber eliminiert. Der grüne Farbstoff ICG wird intravenös appliziert und energieabhängig (ATP) über den Hepatozyten in die Galle ausgeschieden. Die Testmethodik ist ebenso wie die Analysemöglichkeiten im Detail unter 3.4 (Seite 16) dargestellt. Der ICG-Test hat als einziger Test gerade auch im asiatischen Raum wissenschaftlich eine gewisse Verbreitung erlangt (9, 43-45). Dies liegt an folgenden Punkten: Die Substanz Indocyaningrün hat praktisch keine Nebenwirkungen. Nur extrem selten soll eine allergische Reaktion auftreten. In dieser Arbeit konnte bei keiner einzigen Anwendung in über 500 Tests eine unerwünschte Wirkung beobachtet werden. Weiterhin ist der ICG-Test mit der „pulse dye densitometry“-Methode sehr einfach und schnell (ca. 20 min) durchzuführen und das Ergebnis liegt sofort vor. Damit sind die Punkte 2, 4, 5 und 6 der Tabelle 25 ausgeräumt, die einer Verbreitung eines Tests entgegenstehen. Ein wesentliches Problem des ICG-Tests ist jedoch (Punkt 1 + 3), dass der Test nicht genau misst und von mehreren anderen Faktoren abhängig ist. So werden in der Literatur sehr gegensätzliche Ergebnisse und ein weiter Bereich an gemessenen Werten berichtet (72-74). Eine Studie von Takenaka et al. konnte beispielsweise keinen Unterschied im präoperativen ICG-Test vor Leberteilresektion bei Patienten mit Zirrhose und Hepatozellulärem Karzinom zeigen. Es bestand kein Unterschied zwischen der Gruppe der Überlebenden und der Patienten mit Leberversagen (75). Auch in einer Arbeit von Lam et al. ergab sich kein prognostischer Wert des ICG-Tests für das Outcome (76).

Der ICG-Test hat weitere Nachteile: Erstens ist er erheblich vom Leberblutfluss abhängig. Es gibt Arbeiten, die bei stabiler Leberfunktion versuchen mit dem ICG-Test den Leberblutfluss zu messen (77-79). Auf der anderen Seite finden sich Berichte, dass bei hyperdynamen septischen Zuständen die Leberdysfunktion im ICG-Test durch den

erhöhten Blutfluss verschleiert wird (80). Zweitens ist bekannt, dass die Plasmaverschwinderate (PDR) mit der eingesetzten Menge an ICG variiert (40, 44). Drittens wird die ICG-Elimination aus dem Blut durch Bilirubin selbst und andere anionische Substanzen inhibiert. Dies bedeutet, dass eine relevante Hyperbilirubinaemie (über 3 mg/dl) direkt zu einer (fälschlich) verminderten ICG-PDR führt (40, 63).

Zusätzlich konnte im Rahmen dieser Arbeit ein weiterer wesentlicher Einflussfaktor auf den ICG-Test charakterisiert werden: Der Einfluss einer (sub)akuten Cholestase. Nachdem in einzelnen klinischen Fällen beobachtet werden konnte, dass bei Patienten mit nur kurz bestehender Cholestase die ICG-PDR inadäquat zur Leberfunktion erniedrigt war und sich nach Beheben der Cholestase durch endoskopische Papillotomie oder Stent-Platzierung sofort deutlich verbesserte, wurde ein systematisches Experiment an Ratten durchgeführt (Ergebnisse 4.2). Hier zeigte sich ausgesprochen deutlich und klar, dass eine akute Cholestase bei der Ratte praktisch sofort (30 min nach Ligatur des Ductus hepaticus communis (DHC)) zu einer Verminderung der ICG-PDR um 75% führt bei unauffälliger Histologie ohne Hepatozytenschaden. Bisher war in der Literatur immer angenommen worden, dass eine Cholestase bei Ratten innerhalb von 3 oder mehr Tagen zu einer deutlichen Hepatozytenschädigung führt und damit zu Leberfunktionseinschränkungen (81). Somit wurde ein schlechter ICG-Test einige Tage nach DHC-Ligatur in mehreren Arbeiten als Einschränkung der Leberfunktion interpretiert (82-84). Durch das Kurzzeit-Design in den Experimenten dieser Arbeit kann hepatozellulärer Schaden ausgeschlossen werden, die konventionelle Lichtmikroskopie zeigte keine Veränderungen. Das unterstützen auch andere Untersuchungen, die sogar mit weitergehenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen ein oder zwei Stunden nach DHC-Ligatur ebenfalls keinerlei Zellschaden feststellen konnten (85).

Als Erklärung für die starke und schnelle Verschlechterung des ICG-Testes nach Cholestaseinduktion gibt es indirekt sogar ein gutes Modell, das in der Literatur publiziert ist. So zeigten Cotting et al., dass eine Kurzzeitcholestase 20 min nach DHC-Ligatur zu einem sofortigen Kollaps der Potentialdifferenz zwischen Sinusoiden und Gallenkanalikuli führt. Dies erlaubt die Regurgitation von negativ geladenen Molekülen wie Gallensalzen aber auch ICG (86). Parallel konnte Cotting in seinen Experimenten keine Veränderungen der Hämodynamik oder der Hepatozytenmorphologie beobachten.

Diese Regurgitations-Theorie wurde später von anderen Autoren bestätigt (85). Dieses Modell liefert eine gute Erklärung für die Befunde in dieser Arbeit.

Da insgesamt die Stoffwechselforgänge bei Ratten bekanntermaßen gegenüber dem Menschen deutlich beschleunigt sind, muss vermutet werden, dass beim Menschen der direkte Einfluss einer subakuten Cholestase auf den ICG-Test auch nach einigen Tagen vorhanden und relevant ist. Erst bei länger andauernder Cholestase über Wochen kommt dann wahrscheinlich der hepatozelluläre Schaden zum Tragen. Um dies beim Menschen genauer zu verifizieren, wären aber weitere klinische Studien bei akuter Cholestase des Menschen (z.B. akuter Gallensteinverschlussikterus) notwendig.

Zusammengefasst muss in jedem Fall außer den bekannten Einflussfaktoren auf den ICG-Test – Leberblutfluss, ICG-Dosis und Hyperbilirubinaemie – auch die akute Cholestase mit beachtet werden (Tabelle 26).

Parameter	Referenzen	Lösungsmöglichkeit
Leberblutfluss	(77-80)	Ergebnis ist im klinischen Kontext zu interpretieren
ICG-Dosis	(40, 44)	Konstante Dosis benutzen
Hyperbilirubinaemie	(40, 63)	Ergebnis ist im klinischen Kontext zu interpretieren
(Akute) Cholestase	Diese Arbeit	Ergebnis ist im klinischen Kontext zu interpretieren

Tabelle 26. Einflüsse außer der Leberfunktion auf den ICG-Test.

Bis auf die ICG-Dosis, die konstant gehalten werden kann, gibt es außer der klinischen Interpretation keine Möglichkeit, die verschiedenen Einflussfaktoren auseinander zu halten. Daher ist auch der ICG-Test trotz seiner guten Praktikabilität und Durchführbarkeit nicht gut als Leberfunktionstest geeignet.

5.1.4 Atemtests

Eine ganze Anzahl an Atemtests ist in der Vergangenheit beschrieben worden, um die Leberfunktion zu bestimmen (Tabelle 24). Mehrere Übersichtsarbeiten liefern hier einen guten Überblick (2, 6, 7, 22, 64, 87). Bis auf den Aminopyrin-Atemtest ist allen bisherigen Ansätzen gemeinsam, dass die Gabe des Substrates oral erfolgte. Der Hintergrund ist, dass die Diagnostik mit markierten Kohlenstoff (C) sich ursprünglich von der Helicobacter pylori-Diagnostik mit dem ^{14}C oder ^{13}C -Harnstoff-Atemtest herleitete und von gastroenterologischen Kliniken aufgebaut wurde (26, 49, 88, 89). Bis heute stehen außer seit kurzem ^{13}C -Harnstoff keine zugelassenen Fertigarzneimittel mit entsprechenden Testsubstanzen zur Verfügung. Um eine möglichst große Nicht-Invasivität zu gewährleisten, und die Probleme einer notwendigen intravenösen Zubereitung zu umgehen, wurde traditionell die Diagnostik mit ^{13}C -markierten Testsubstanzen praktisch ausschließlich mit der oralen Gabe durchgeführt. Bis auf den Aminopyrin- und Phenylalanin-Atemtest, für den in einigen Studien auch eine intravenöse Anwendung vorgeschlagen wurde (90-93), wurde in allen anderen Ansätzen die Testsubstanz oral verabreicht.

Die orale Zufuhr einer Testsubstanz ist aus prinzipiellen Überlegungen für einen Einsatz als Leberfunktionstest ungeeignet, was an dieser Stelle näher diskutiert werden soll. Um Aussagen über die Verstoffwechslung oder den Transport von Substanzen durch die Leber machen zu können, ist es bei genauer Betrachtungsweise Grundvoraussetzung, dass die Testsubstanz gleichartig an der Leber anflutet, um Transport- und/ oder Enzymsysteme auslasten zu können. Diese Systeme in der Leber müssen der einzige geschwindigkeitsbestimmende Schritt in der Kette von der Verabreichung einer Testsubstanz bis hin zur Probenentnahme für die Analyse sein. Ist diese Tatsache nicht gewährleistet, leidet jeder Leberfunktionstest bereits systembedingt an einer zusätzlichen Ungenauigkeit, die sich zu der eigentlichen Ungenauigkeit des leberbedingten Teils des Testsystems noch addiert. Bei einer oralen Verabreichung ist die Magenentleerung und Resorption der Substanz im Duodenum und Jejunum von wesentlicher Bedeutung. Speziell bei Lebererkrankungen findet sich aber regelmäßig eine Störung der gastrointestinalen Motilität mit gestörter Magenentleerung und Resorption (66, 67, 94, 95). Schon alleine daraus folgt praktisch zwingend, dass eine orale Verabreichung einer Testsubstanz für einen Leberfunktionstest zu unsicheren Ergebnissen führen muss. Diese Tatsache wurde

bereits vor 25 Jahren von Pauwels erkannt, der daraufhin ^{14}C -markiertes Aminopyrin intravenös einsetzte (92). Mit der Substanz Aminopyrin waren die Ergebnisse allerdings trotz intravenösem Einsatz nicht zufriedenstellend (91). Ursache ist, dass Aminopyrin über mehrere Schritte metabolisiert wird und keine kinetische Analyse durchgeführt wurde, wie sie später für den LiMAX-Test dargestellt wird.

Auch in dieser Arbeit wurden Vorversuche mit oraler Gabe von ^{13}C -Methacetin wie in der Literatur beschrieben (8, 32) durchgeführt (4.1). Speziell in der Leberchirurgie im postoperativen Monitoring der Leberfunktion zeigt sich schnell, dass ein oraler Test völlig ungeeignet ist. Regelmäßig kommt es zu einem mehr oder weniger ausgeprägten Subileus oder Ileus (96). Obwohl im Protokoll der Untersuchung mit dem oralen Methacetin-Atemtest schon vorgesehen war, den ersten postoperativen Test erst am POD 2 vorzunehmen, zeigte sich bei einigen Patienten deutlich der Einfluss eines postoperativen Ileus (Abbildung 16 und Abbildung 17, Seite 48). Teilweise war an einigen Testtagen überhaupt kein $^{13}\text{CO}_2$ -Signalanstieg in der Ausatemluft detektierbar. Hiermit war klar nachgewiesen, dass der Einsatz eines oralen Leberfunktionstest im postoperativen Verlauf grundsätzlich nicht sinnvoll ist.

Die orale Gabe der Testsubstanz ist aber in der Reihe der Atemteste zur Leberfunktions-Untersuchung bei weitem nicht der einzige Grund, dass diese nicht eingesetzt werden. Bei den meisten Substanzen findet die Metabolisierung über mehrere Schritte bzw. Enzyme statt, durch die die Kinetik verzögert und von der Analyse komplizierter ist (Punkt 1+3 der Tabelle 25). Wie in 5.2 noch näher erläutert wird ist eine kinetische Analyse unbedingt notwendig, bisher aber bei keinem Testsystem berücksichtigt worden. Ebenso konnte bisher kein Testsystem nachweisen, dass eine individuelle Aussage eines Testwertes für den einzelnen Patienten präzise genug möglich ist. Ein Korrelationsfaktor von über $r = 0,9$ ($r^2 = 0,81$) im Verhältnis zu einem Goldstandard wie der Volumenberechnung ist dazu in der Lage. Ein weiterer wesentlicher Punkt ist die Praktikabilität des Tests und das schnelle Vorliegen des Testergebnisses (Punkt 4-6 der Tabelle 25). Nach dem bisherigen Stand der Technik wird bei allen Atemtesten fast ausschließlich eine zeitversetzte, spätere Laboranalyse durchgeführt: Vor und nach Verabreichung der Testsubstanz werden zu festgelegten Zeitpunkten Atemgasproben gesammelt. Diese Atemgasproben werden dann in ein Funktionslabor weitergeleitet, wo im Idealfall noch am selben Tag, in der Regel aber 1-3 Tage später die Messung und Auswertung der Atemgasproben stattfindet. Damit ist

eine schnelle klinische Reaktion auf einen Leberfunktionstest unmöglich, um z.B. im postoperativen Verlauf weitere Diagnostik oder Therapien zu veranlassen.

5.1.5 Andere Tests

Die Bestimmung der Serumgallensäuren wurde ebenfalls als Test zur Beurteilung der Leberfunktion vorgeschlagen (97, 98), wird aber klinisch nicht angewandt. Gallensäuren werden über die Leber in die Galle ausgeschieden und unterliegen dem entero-hepatischen Kreislauf (99). Die Bestimmung der Gallensäuren ist methodisch aufwendig. Der Anstieg der Gallensäuren entsteht bei der Leberzirrhose durch die Einschränkung der Leberzellfunktion, aber auch durch porto-systemische Shunts, wodurch Gallensäuren vermehrt in die systemische Zirkulation gelangen. Verschiedene Studien konnten einen gewissen prognostischen Wert bei Leberzirrhose zeigen (97, 98), jedoch ist die Bestimmung der Gallensäuren in keiner Weise spezifisch für die Leberfunktionskapazität. Damit ist schon der Punkt 1 der Tabelle 25 erfüllt (außerdem 3 + 4 + 5 + 6).

Ein weiterer selten untersuchter Test, der sogenannte Hippursäure-Quotient, beschreibt das Verhältnis von Para-Amino-Benzoe-Säure (PABA) und ihrer Stoffwechselprodukte Para-Amino-Hippursäure und Para-Acet-Amino-Hippursäure. Para-Amino-Benzoe-Säure ist nicht toxisch und wird über den Darm aufgenommen. Durch eine Konjugation unabhängig von Zytochrom P 450 wird die Säure in vielen Schritten verstoffwechselt, wobei die oben genannten acetylierten Produkte entstehen. Diese sind stabil und weisen eine nur geringe Albuminbindung auf. Gemessen wird der Hippursäure-Quotient 30 min nach oraler Einnahme von 5 mg/kg KG Para-Amino-Benzoe-Säure. Der Quotient ist bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose und akutem Leberversagen deutlich reduziert (100). Dieser Test einschließlich der Analyse ist jedoch aufwendig durchzuführen und erlaubt keine richtige quantitative Aussage. Er erfüllt fast alle ungünstigen Kriterien der Tabelle 25 (Punkt 1, 3-6).

Auch mittels der Asialoglycoprotein Rezeptor Szintigraphie (ASGPR) unter der Benutzung von „Technetium-99m labelled galactosyl serum albumin“ (99mTc-GSA) wurde versucht, die Leberfunktion zu bestimmen (101, 102). Es konnte gezeigt werden, dass die 99mTc-GSA-Anreicherung in der Leber mit konventionellen Laborparametern und dem Child-Pugh-Score sowie dem Hepatozytenvolumen korreliert (103). Ein interessanter Aspekt dieses Testes liegt jedoch in der Möglichkeit, einen Hinweis auf

regionale Veränderungen der Leberfunktion durch eine gewisse räumliche Auflösung zu erhalten. So konnte Sugai et al. zeigen, dass nach rechtsseitiger portalvenöser Embolisation (PVE) die Aktivität im linken Leberlappen steigt (104). Die auf das Volumen korrigierte Anreicherung schien bei den wenigen Patienten in dieser Studie (n=11) auch einen Einfluss auf das Outcome zu haben. Demnach könnte es bei PVE und kritischen Resektionen interessant sein, die regionale Funktion des zukünftigen Leberrestes zu überprüfen. Jedoch hat die ASGPR ebenfalls erhebliche Nachteile: Die Untersuchung ist aufwendig und kann nur in speziellen Einrichtungen durchgeführt werden (Tabelle 25, Punkt 5+6). ^{99m}Tc -GSA ist radioaktiv und daher nicht bei jedem Patienten und nicht beliebig oft einsetzbar (Punkt 2). Der Test kann nicht direkt beim Patienten durchgeführt werden und liefert auch keine richtige parametrische Quantifizierung.

5.1.6 Fazit

Bisher steht kein Testsystem zur Verfügung, das zuverlässig einen individuell interpretierbaren Messwert der quantitativen Leberfunktionskapazität liefert und in kurzer Zeit praktikabel am Patientenbett durchgeführt werden kann. Weiterhin gibt es keine klaren Aussagen zu prä- oder postoperativen Grenzwerten, die eine Entscheidungsfindung für die weitere Therapie vor oder nach leberchirurgischen Eingriffen erlauben. So kommt Mullin et al. zu dem Schluss „However, there is no one single test that remains conclusively superior“ (9). Schneider et al. fassen zusammen “At the present time, the decision to resect and the choice of the extent of a hepatic resection are largely based on surgical judgment” (4). Kanzler et al. schreibt “Bislang kann allerdings kein Leberfunktionstest für sich alleine sichere Grenzen der Resektabilität aufzeigen, so dass Leberfunktionstests im klinischen Alltag derzeit keinen festen Platz haben“ (5).

5.2 Entwicklung eines neuen Tests zur Bestimmung der maximalen Leberfunktionskapazität (LiMAX-Test)

Ziel dieser Arbeit war es, einen zuverlässigen und präzisen Test zur Bestimmung der maximalen quantitativen Leberfunktionskapazität zu entwickeln, der praktikabel direkt am Patientenbett durchgeführt werden kann und sofort ein Ergebnis liefert.

Eine wesentliche Frage bei der Entwicklung eines neuen Testsystems zur Bestimmung der maximalen Leberfunktionskapazität ist, welches Substrat eingesetzt werden sollte. Ausgewählt wurde aus mehreren Gründen die bekannte Substanz ^{13}C -Methacetin. Methacetin wurde bereits Anfang des letzten Jahrhunderts als Schmerzmittel in der Literatur erwähnt, allerdings war der analgetische Effekt nicht überzeugend (105). Die Toxizität und das Nebenwirkungsprofil der Substanz sind minimal (30, 31). In zahlreichen Publikationen mit ^{13}C -Methacetin in den letzten Jahrzehnten wurde in keiner einzigen Arbeit über unerwünschte Wirkungen berichtet (8, 32-36, 38, 106-108). Bei der Verstoffwechslung von Methacetin entstehen CO_2 und Paracetamol in geringen Mengen. In der in dieser Arbeit angewandten Dosis von 2 mg/kg KG entstehen z.B. bei einem Patienten mit 100 kg Körpergewicht im Verlauf des Tests weniger als 200 mg Paracetamol, die wahrscheinlich noch nicht einmal eine relevante analgetische Wirkung auslösen. Somit ist Methacetin wegen seiner guten Verträglichkeit und den fast fehlenden Nebenwirkungen optimal geeignet und kann so auch bei Gesunden zur Referenzwert-Bildung oder für Vorsorge- und Verdachtsuntersuchungen problemlos eingesetzt werden.

Ein weiterer wesentlicher Grund ist die Art der Metabolisierung von Methacetin durch die Leber. Entscheidend für eine kinetische Analyse des Substratumsatzes ist, dass der Umsatz möglichst einfach und in wenigen Schritten abläuft. Nur dann kann zuverlässig auf den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt, der in der Leber liegen muss, zurückgeschlossen werden. Methacetin unterliegt nach der intravenösen Verabreichung nur einem einzigen enzymatischen Schritt: Die Methylgruppe wird in einem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt durch das Cytochrom p450 CYP1A2 abgespalten (29) und es entsteht Formaldehyd und Paracetamol (vergleiche Abbildung 2, Seite 13). Aus dem Formaldehyd entsteht extrem schnell CO_2 , das abgeatmet wird. Im Vergleich zu anderen Substanzen, die für die Verwendung in Leberfunktionstesten vorgeschlagen wurden (Tabelle 24) ist Methacetin der einzige metabolische Test, der nachgewiesenermaßen nur in einem einzigen Schritt umgesetzt wird. Andere

Substanzen wie z.B. ^{13}C -Aminopyrin (109, 110) oder ^{13}C -Phenylalanin (111, 112) werden in mehreren enzymatischen Schritten oder über verschiedene Enzyme metabolisiert. Einige Substanzen sind außerdem an mehreren Stellen mit ^{13}C substituiert (Aminopyrin: 2). Aus diesen Gründen ist der Umsatz von der Verabreichung bis zum Auftreten von $^{13}\text{CO}_2$ in der Atemluft verzögert und abhängig von zusätzlichen Zeitkonstanten, was die Analyse erschwert. Auch unter diesen Aspekten ist ^{13}C -Methacetin eine optimale Substanz.

Absolut notwendig für eine zuverlässige Analyse ist die intravenöse Bolusgabe des ^{13}C -Methacetin, die erstmals beim LiMAX-Test eingesetzt wurde. Einerseits wird hierdurch die gesamte Problematik der gestörten oder verzögerten intestinalen Resorption sicher umgangen, wie im vorhergehenden Abschnitt unter 5.1.4 genauer erläutert worden ist. Mindestens so wichtig ist andererseits, dass die Substanz im Bolus injiziert wird. Diese Bolusinjektion bewirkt eine schnelle, möglichst hochkonzentrierte Substratanflutung an der Leber und damit am umsetzenden Enzymsystem. Diese Tatsache ist deshalb so wichtig, um das zu untersuchende Enzymsystem (hier CYP1A2) so gut wie möglich vollständig auszulasten. Analog einer Enzymkinetik nullter Ordnung wäre es bei einer solchen Auslastung dann möglich, auf die vorhandene Enzymmenge rückschließen zu können. Um auf die gesamte maximale quantitative Leberfunktionskapazität schließen zu können, wie es Ziel des LiMAX-Testes ist, ist es notwendig, dass diese Enzymmenge auch repräsentativ für die Gesamt-Leber ist. Dies ist in optimaler Weise für das CYP1A2 gegeben, über das Methacetin metabolisiert wird. So untersuchte die Arbeitsgruppe von Palmer mittels in-situ-Hybridisierung die Lokalisierung von verschiedenen Cytochrom p450 Isoenzymen in der Leber und fand eine homogene Verteilung über alle Zonen des Acinus (113). Dagegen zeigte sich in der gleichen Arbeit die CYP3A Subfamilie vor allem in der Acinus-Zone 3 lokalisiert und damit weniger geeignet für eine repräsentative Einschätzung. Außer der homogenen Verteilung in der Leber ist entscheidend für die Spezifität des LiMAX-Testes, dass der Substratumsatz ausschließlich in der Leber stattfindet. Generell ist für verschiedene Cytochrom p450 Subfamilien beschrieben, dass sie auch in anderen Geweben vorkommen können (114, 115). Für CYP1A2 wurde aber nur mRNA nachgewiesen und kein funktionell aktives Protein. Um für das gesamte LiMAX-Testsystem sicherzustellen, dass eine Metabolisierung tatsächlich nur in der Leber stattfindet, wurden in dieser Arbeit Messungen während der anhepatischen Phase von Lebertransplantationen

durchgeführt (3.10 und 4.5). In dieser Phase ist kein Lebergewebe im Organismus vorhanden und bei absoluter Spezifität darf dann kein Substrat (^{13}C -Methacetin) umgesetzt werden. In den durchgeführten Messungen ließ sich klar zeigen, dass bei ^{13}C -Methacetin-Injektion in der anhepatischen Phase kein messbarer Stoffumsatz stattfindet, der LiMAX-Test also spezifisch für die Leber ist. Dagegen gibt es vergleichbare aktuelle Untersuchungen, die für den ICG-Test zeigen, dass die PDR nicht null ist (116), also die Spezifität nicht völlig gegeben ist.

Unter den oben genannten Voraussetzungen konnte durch die kinetische Betrachtungsweise bei möglichst vollständiger Enzymauslastung die neue Berechnung für den LiMAX-Test entsprechend der Formel 13 (Seite 36) entwickelt werden. Diese ist von der Berechnung her unabhängig von der eingesetzten Dosis. Die Dosis spielt aber eine wichtige Rolle für die Enzymauslastung. In die Berechnung fließt im Wesentlichen nur das entstehende Stoffwechselprodukt $^{13}\text{CO}_2$ am Punkt seines maximalen Auftretens ein. Weiterhin wird das Ergebnis auf das Körpergewicht normiert, was für den interindividuellen Vergleich von entscheidender Bedeutung ist. Eine Arbeit von Vauthey und Koautoren (117) konnte bei einer Analyse von 292 erwachsenen Patienten ohne Lebererkrankung mit CT-Volumetrie eine klare Korrelation allein zum Körpergewicht zeigen (Abbildung 35). Der interindividuelle Vergleich mit dem LiMAX-Test wird daher überhaupt erst durch dessen Normierung ermöglicht.

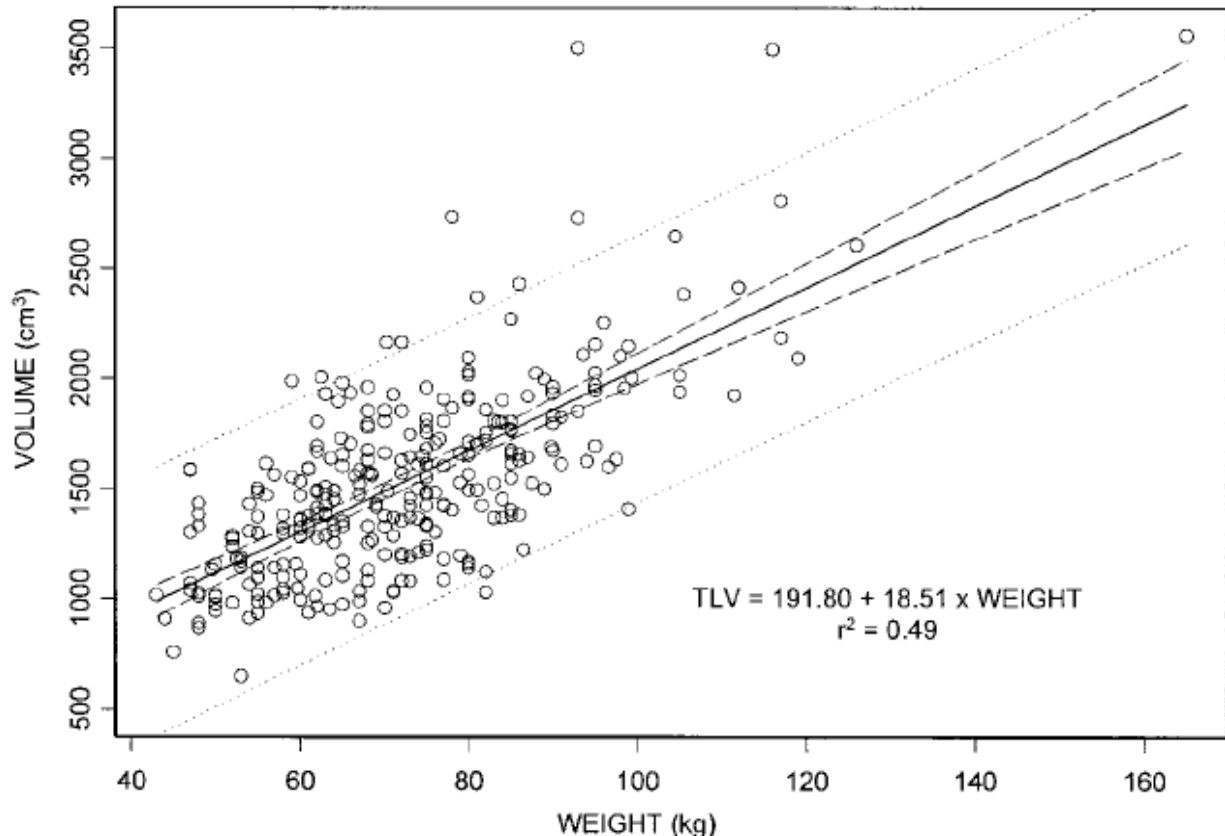


Abbildung 35. Korrelation von Lebervolumen und Körpergewicht.

Eine Untersuchung mit CT-Volumetrie an 292 Patienten ohne Lebererkrankung von Vauthey (117).

Es ist also für die Berechnung des LiMAX-Testes notwendig, den Punkt des maximalen Auftretens von ¹³CO₂ in der Ausatemluft zu finden. An diesem Punkt muss der Absolutwert der relativen ¹³CO₂ Konzentration präzise gemessen werden. Beides stellt sehr hohe Ansprüche an die Messmethodik zur Bestimmung von ¹³CO₂. Gleichzeitig sollte die Messung aber am Patientenbett stattfinden können, womit große Laborgeräte zur Analyse von vornherein ausscheiden. Um den Punkt des maximalen Auftretens von ¹³CO₂ in der Ausatemluft zu finden, der individuell variiert, müsste idealerweise eine kontinuierlich Messung erfolgen. Dies ist bis heute mit keiner Methode möglich. Auch eine neuere, als „continuous automatic molecular correlation spectroscopy“ bezeichnete Methode (118) erlaubt nur Messintervalle von minimal 3 Minuten und ist bedeutend ungenauer ($\pm 2,5 \delta^\circ/\circ$) als die in dieser Arbeit verwendete NDIRS-Methode ($\pm 1,0 \delta^\circ/\circ$; siehe 3.1.2, Seite 8). Atemtests wurden bisher so durchgeführt, dass vor und in bestimmten Abständen nach der Substratgabe Atemgasproben in Röhrchen oder Beutel gesammelt und später einzeln an einem Analysegerät gemessen wurden. Im

Rahmen dieser Arbeit wurde basierend auf einem hochpräzisen NDIRS-Gerät eine Online-Messmethodik entwickelt, die minimale Messintervalle von knapp über 1 min erlaubt, sich transportabel am Patientenbett einsetzen lässt und einen deutlich geringeren Personalaufwand erforderte (3.7, Seite 23). Dies war möglich durch einen speziellen Programmablauf der NDIRS-Steuerung, durch Entwicklung einer speziellen Atemmaske, die zuverlässig die Ausatemluft separiert ohne wesentlich zusätzlichen Totraum zu schaffen, sowie durch Integration eines speziellen Feuchtetauschers, um den Einfluss von Wasserdampf zu minimieren. Diese Entwicklungen bewirkten, dass in kurzen Zeitintervallen mit korrekt erfassten Zeitpunkten gemessen werden konnte. Dadurch war eine präzisere Analyse des $^{13}\text{CO}_2$ -Maximalwertes möglich und es wurden alle Nachteile einer „Offline“-Messung umgangen: Ungenau erfasste Zeitpunkte der Atemproben, größere Zeitabstände, höherer Überwachungsbedarf durch Personal. Zusätzlich lag das Messergebnis mit dem Ende der Messung sofort vor, was für den praktischen klinischen Einsatz von hoher Bedeutung ist. Vergleichsmessungen zwischen der neu entwickelten Online-Messung und konventionellen Messungen mit Atemgasbeuteln konnten nachweisen, dass zwischen neuer und alter Methodik kein Unterschied bestand (Ergebnisse 4.4).

Erwähnt werden muss allerdings auch, dass die Messung mit dem NDIRS-Gerät teilweise erhebliche Nachteile aufweist. Alle Geräte dieser Bauart – so auch das in dieser Arbeit eingesetzte – sind ausschließlich für den stationären Einsatz konstruiert. Dies ist aus mehreren Gründen von Bedeutung: Für eine stabile Messung muss das Gerät konstant bei einer Temperatur von 50°C gehalten werden und hat bei auch nur kurzzeitigem Abfall der Temperatur eine Stabilisierungszeit von mehreren Stunden. Daher musste die verwendete mobile Konstruktion durch eine unabhängige Stromversorgung (USV) mit Akku konstant mit Strom versorgt werden (3.7.2). Weiterhin sind die Geräte erschütterungsempfindlich. Erfreulicherweise zeigte sich hier, dass beim erschütterungsfreien Abstellen am Patientenbett sofort eine stabile Messung möglich war.

Erheblich Probleme bereitete ebenfalls die Abhängigkeit der NDIRS-Messung von unterschiedlichen Trägergasen (18). Besonders problematisch ist im klinischen Einsatz die bisher noch nicht beschriebene, erhebliche Abhängigkeit von Sauerstoff, die in dieser Arbeit klar herausgearbeitet werden konnte (Ergebnisse 4.3) (17). Dies bedeutet, dass bei klinisch unbedingt notwendiger Sauerstoffapplikation dafür Sorge getragen

werden muss, dass die Sauerstoffkonzentration (FiO_2) bereits vor Messung der Basalwerte und im gesamten weiteren Testverlauf konstant gehalten werden muss. Zusammengefasst ist die NDIRS-Messtechnik mit den beschriebenen Modifikationen und entsprechenden Vorkehrungen gut einsetzbar, als Ausblick für die Zukunft wäre aber eine Geräte-Neuentwicklung ohne die erwähnten Nachteile sehr wünschenswert.

Erwähnenswert als Einflussfaktoren auf den LiMAX-Test sind natürlich auch Inhibitoren oder Induktoren des CYP1A2-Systems. Außer wenigen Substanzen wie einige Antidepressiva (119), die einen relevanten klinischen Effekt haben können, ist der Einfluss im Vergleich zu vielen anderen Enzymsystemen (z.B. CYP3A4) insgesamt eher gering. Einen Einfluss hat das Rauchen, was zu einer geringen Induktion von CYP1A2 führt und was klinisch ggf. zu beachten ist (120, 121). Allerdings zeigte sich im Normalkollektiv dieser Arbeit kein signifikanter Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern (Abbildung 24, Seite 58), die LiMAX-Werte bei Rauchern waren jedoch bei Normalpersonen um etwa 8% höher. Da es sich hier um eine prozentuale Induktion durch das Rauchen handelt, wird der absolute Effekt bei zunehmender Leberinsuffizienz und niedrigen LiMAX-Werten immer geringer und spielt im unteren Wertebereich kaum noch eine Rolle.

Erfreulicherweise haben genetische Polymorphismen offensichtlich kaum einen Einfluss auf das CYP1A2-System. Außer dem Wildtyp sind 3 bekannte Allele beschrieben, für die aber kein signifikanter klinischer Einfluss beschrieben ist oder deren Einfluss unklar ist (119, 122).

Zuletzt muss ein Einflussfaktor erwähnt werden, der leicht abstellbar ist, in der klinischen Praxis aber manchmal Probleme bereiten kann. Um beim LiMAX-Test (und bei jedem ^{13}C -Atemtest) stabile Messbedingungen zu erhalten, muss der Patient nüchtern sein. Dies hat den Hintergrund, dass ^{13}C natürlicherweise in verschiedenen Nahrungsbestandteilen in unterschiedlicher Menge vorkommt und somit nach Nahrungsaufnahme keine stabilen „Steady-state“ Bedingungen mehr gegeben sind und es zu einer größeren Grundlinien (Baseline)-Schwankung kommt (123). Dies ist für eine zuverlässige Messung jedoch Voraussetzung und muss beachtet werden. Es ist zu beachten, dass auch in unterschiedlichen Infusionslösungen wie Glukose-Lösung (G5-50%) aber auch Hydroxyethylstärke (HAES), die Kohlenstoffatome enthalten, ^{13}C in sehr verschiedenen Anteilen enthalten ist. Gerade bei Intensivpatienten und anderen Patienten, die parenteraler Ernährung bedürfen, ist daher eine Nüchtern-Periode ohne

parenterale Substitution von wenigstens 3-6 besser 8 Stunden sicherzustellen (123). Das gilt natürlich ebenso für jede enterale Sondenernährung. In kritischen Intensivsituationen, in denen eine geringe Gabe von Glukose notwendig ist, wäre alternativ eine länger andauernde kontinuierliche Verabreichung von G5% denkbar, um weiterhin Steady-state Bedingungen zu erreichen. Da insgesamt die Messzeit beim LiMAx-Test nur etwas über einer Stunde beträgt, sind im Vergleich zu vielen länger dauernden Atemtests langsame Baseline-Veränderungen eher unkritisch.

Die folgende Tabelle 27 gibt abschließend einen Überblick über die relevanten und beachtenswerten Einflussfaktoren auf den LiMAx-Test:

Faktor	Einfluss
Enzymsystem	
- Medikamente	Insgesamt gering, im Einzelfall relevant
- Rauchen	Vorhanden, aber klinisch gering
- Genetik	Gering
Durchführung	
- Exogener ¹³ C-Eintrag (Essen, Infusionen etc.)	Relevant
Messtechnisch (NDIRS)	
- Trägergase, insbes. O ₂	Relevant
- Wasserdampf	Kompensierbar durch Wasserdampfaustauscher

Tabelle 27. Relevante Einflussfaktoren auf den LiMAx-Test.

5.3 Wertigkeit des LiMAx-Test in der Leberchirurgie

Die Vorhersage eines möglichen Leberversagens oder einer Leberinsuffizienz nach Leberteilresektionen ist ein spannendes Dauerthema in der Leberchirurgie (4, 5, 9, 10, 124-126). Zahlreiche Klassifikationssysteme wurden in den letzten Jahrzehnten beschrieben, die eine Risikostratifizierung von Patientengruppen erlauben sollten (14, 60, 125, 127). Der Bekannteste ist der Child-Pugh (CP)-Score zur klinischen Einschätzung des chronischen Leberschadens (128, 129). Der prädiktive Wert des Child-Pugh-Scores für Leberteilresektionen ist in der Literatur sehr variabel. In einer Arbeit von Franco et al. beispielsweise konnte gezeigt werden, dass die Mortalität für Patienten mit CP A, die sich einer Leberteilresektion unterzogen, 3,7 % gegenüber 16,7 % bei CP B-C war, obwohl nur kleine Resektionen durchgeführt wurden (130). Demgegenüber fanden zwei andere Arbeitsgruppen, dass durch eine Klassifizierung nach dem CP-Score kein signifikanter Unterschied in der Mortalität feststellbar war (131, 132). Auch die zahlreich entwickelten bisherigen Leberfunktionsteste, wie sie näher im Abschnitt 5.1 beschrieben wurden, konnten für die Vorhersage eines postoperativen Leberversagens keine eindeutigen Ergebnisse liefern (siehe Fazit 5.1.6, Seite 95). Bis jetzt wurden daher klinische Entscheidungen über die Resektabilität und das Ausmaß der Leberteilresektion vor allem von der Erfahrung des Chirurgen bestimmt (4, 9).

Diese Situation war die Veranlassung, ein besseres Testsystem, den LiMAx-Test, zu entwickeln. In der vorliegenden Arbeit wurde der LiMAx-Test bei Patienten ohne Lebervorschädigung und ohne intraoperative Ischämie direkt gegen das Lebervolumen evaluiert und es zeigte sich eine exzellente Übereinstimmung. Der Vergleich mit dem Lebervolumen bei gesundem Lebergewebe ist die beste Möglichkeit, einen Test zur Bestimmung der Leberfunktion zu evaluieren. Das Vorgehen ist vergleichbar mit einem tierexperimentellen Versuchsdesign, bei dem ein definierter Teil der Leber entfernt wird und zu untersuchende Parameter mit dem Restlebergewebe verglichen werden (133). Möglich ist dies beim Menschen allerdings erst, seit die Bestimmung des Lebervolumens mit Hilfe der Computertomographie (CT-Volumetrie) (134) oder Magnetresonanztomographie ausreichend genau durchgeführt werden kann (135). Zusammen mit der intraoperativen Verdrängungsvolumetrie (136) ist so eine Bestimmung des funktionellen Rest-Lebergewebes (functional remnant liver volume, FRLV) möglich, mit dem direkt der postoperativ übrig gebliebene „Rest“-LiMAx

verglichen wurde (4.7). Die Korrelation mit dem LiMAx-Test ($r^2=0,88$) ist so hoch, dass sie außer dem Beleg der Zuverlässigkeit des LiMAx-Testes andersherum eine relativ präzise Vorhersage des postoperativen LiMAx durch präoperative Resektionsplanung mit CT-Volumetrie und präoperativen LiMAx-Test möglich ist. Diese **Volumen-/Funktions-Planung** könnte mit dem Wissen um den alles entscheidenden prädiktiven Wertes des direkt postoperativen LiMAx-Wertes zukünftig von hoher Bedeutung sein. Eine immer genauer werdende virtuelle Resektionsplanung ist durch entsprechende Hilfsmittel und Programme inzwischen auch für den Chirurgen selbst möglich, der natürlich am Besten die geplanten Resektionsgrenzen setzen kann (137-139). Jedoch muss beachtet werden, dass der direkte Zusammenhang zwischen LiMAx und FRLV nur für gesundes Lebergewebe gilt. Für bereits zirrhotisch umgebautes Lebergewebe, das wesentlich empfindlicher auf ein operatives Trauma reagiert, sowie bei einer zusätzlichen akuten Schädigung des Lebergewebes z.B. durch relevante intraoperative Ischämie bei Pringle-Manöver oder Gefäßrekonstruktion ist mit einem überproportionalem Absinken des postoperativen LiMAx-Wertes zu rechnen. Wie groß in den erwähnten Situationen der zusätzliche Abfall des LiMAx-Wertes sein kann, muss in zukünftigen Studien geklärt werden. In jedem Fall ist in solchen Situationen ein Puffer hin zu kritischen LiMAx-Schwellenwerten (s.u.) einzuplanen.

Kein anderer Parameter konnte in der vorliegenden Arbeit auch nur annähernd an die gute Korrelation des LiMAx-Testes mit dem FRLV heranreichen. Die nächstbeste Korrelation zeigte der ICG-Test mit einem $r^2=0,39$ und der Gerinnungs-Faktor VII mit $r^2=0,26$. Beide Korrelationen bewegen sich allerdings in einem Bereich, der keine zuverlässige individuelle Vorhersage mehr zulässt (siehe Abbildung 26 und Abbildung 27, Seite 60f).

Wie in Abbildung 29 (Seite 71) dargestellt, kann mit dem LiMAx-Test auch die Leberregeneration nach Leberteilresektion am Menschen gemessen werden. Bisher war dies beim Menschen nicht oder nur unter hohem ethisch kaum vertretbaren Aufwand möglich, weshalb zur Untersuchung der Leberregeneration bislang fast ausschließlich Tiermodelle Anwendung fanden (133, 140). Der LiMAx-Test im Verlauf nach Leberteilresektion zeigt in überraschend klarer Weise, wie die (funktionelle) Leberregeneration zunächst innerhalb von 2-3 Tagen stark aktiviert und dann wieder herunterreguliert wird, bis 85 Tage (3 Monate) nach Leberteilresektion fast der Ausgangswert wieder erreicht ist. In Tierexperimenten mit Ratten sind diese Vorgänge

nach Leberteileresektion wesentlich schneller: So verdoppeln Rattenlebern nach Leberteileresektion ihr Gewicht bereits nach 48 Stunden wieder und haben nach etwa 7 Tagen ihren Ausgangswert erreicht (141). Allerdings gibt es bisher nur in wenigen Arbeiten mit Tieren überhaupt eine funktionelle Charakterisierung der Leberfunktion (48). Mit dem LiMAx-Test könnte sich zukünftig die Möglichkeit eröffnen, Regenerationsverläufe nach Leberteileresektionen oder Leberschäden bei unterschiedlichen Interventionen zu verfolgen.

In der multivariaten logistischen Regressions-Analyse war der postoperative LiMAx-Wert am POD 1 der einzige signifikante Parameter für die Vorhersage eines Leberversagens oder einer schweren Leberinsuffizienz. In die Analyse wurden dabei alle wesentlichen in der Literatur beschriebenen Faktoren eingeschlossen: Präoperatives Bilirubin (13, 142, 143), präoperative Thrombozyten (13), histologischer Fibrosegrad/Zirrhose oder Child-Pugh-Score (60), Ausdehnung der Leberteileresektion (Segmente, Eingriffsart oder Volumen) (13, 125, 142, 144, 145), Alter (13, 60, 125, 142, 146), BMI (144), Operationszeit (143, 144), Blutverlust oder Bluttransfusionen (75, 125, 144, 146), Komplikationen/ Galleleck (75, 147), ICG-Test (siehe 5.1.3).

Die Tatsache, dass nur der LiMAx-Test und damit ausschließlich die verbleibende Leberfunktionskapazität der entscheidende Faktor für das Entstehen eines Leberversagens oder einer Leberinsuffizienz ist, scheint auf den ersten Blick sehr simpel und überraschend. Jedoch war es bisher beim Menschen nicht möglich, die Leberfunktionskapazität zuverlässig und praktikabel im klinischen Einsatz zu bestimmen. Die meisten im vorigen Absatz genannten Risikofaktoren, die bisher in der Literatur herausgearbeitet wurden, bewirken nichts anderes, als dass sie die postoperativ verbliebene Leberfunktionskapazität vermindern. Erhöhte Leberwerte, erniedrigte Thrombozyten, eine Fibrose/Zirrhose sowie der Child-Pugh Score zeigen eine Vorschädigung der Leber an, was auch eine geringere Leberfunktionskapazität postoperativ bedeutet. Natürlich führt die Ausdehnung der Leberteileresektion zu postoperativ niedrigeren Werten. Das Alter kann über eine unerkannte Vorschädigung (steigende Wahrscheinlichkeit) oder über bei hohem Alter verminderte Leberfunktionskapazität beitragen (148). Der BMI kann bei hohen Werten auf eine Fettleber oder Steatohepatitis hinweisen. Die Operationszeit und der intraoperative Blutverlust bzw. Bluttransfusionen zeigen eine komplizierte Operation mit ggf. bedeutender Ischämie oder Schädigung an, dass die postoperative

Leberfunktionskapazität vermindert. Schließlich führen natürlich auch postoperative Komplikationen ggf. durch eine Sepsis zu einer negativen Beeinflussung der Leberfunktionskapazität, allerdings häufig erst im weiteren Verlauf. Alle genannten Faktoren werden durch den postoperativen LiMAx-Test in einem Messwert erfasst. Daher ist es am Ende logisch, dass bei der durchgeführten multivariaten Analyse nur die Leberfunktionskapazität gemessen durch den LiMAx-Test der einzig entscheidende Faktor ist.

Dagegen zeigt die multivariate Analyse der Risikofaktoren für schwere allgemeine postoperative Komplikationen insgesamt, die nach der revidierten Klassifikation für chirurgische Komplikationen der Clavien-Gruppe bewertet wurden, dass hier noch andere Faktoren eine Rolle spielen. So ist der LiMAx-Test am POD 1 zwar auch ein signifikanter Faktor, es spielen aber weiterhin noch eine lange Operationszeit und ein niedriger BMI eine Rolle. Beide Faktoren bedingen ein höheres Risiko für allgemeine Komplikationen (149).

Die Daten der multivariaten Analyse werden unterstützt durch die ROC-Analysen (Abbildung 32 bis Abbildung 34, Seite 80). Für den LiMAx POD 1 mit Leberversagen und schwerer Leberinsuffizienz spiegelt der sehr hohe AUROC (area under the receiver operating characteristic curve)-Wert wieder, dass nur der eine Faktor LiMAx eine Rolle in der Unterscheidung spielt. Bei der ROC-Analyse für schwere Komplikationen ist der AUROC deutlich geringer und an der ROC-Kurve kann man erkennen, dass der Faktor LiMAx nicht der einzige Faktor ist. Die ROC-Analysen erlauben weiterhin aber auch, günstige Schwellenwerte (Cutoff-Werte) für die Unterscheidung zu erhalten. Mit diesen Schwellenwerten können dann Sensitivität und Spezifität sowie negativer und positiver prädiktiver Wert (NPV und PPV) bestimmt werden. Interessant ist für die klinische Anwendung des LiMAx-Testes vor allem der negative und positive prädiktive Wert direkt nach der Operation (POD 1), denn diese geben anhand des Testergebnisses die Wahrscheinlichkeiten wieder, dass der Patient in der Folge das entsprechende Merkmal entwickelt. Dies soll kurz für die Vorhersage des LiMAx am POD 1 für das Auftreten eines Leberversagens dargestellt werden (Tabelle 21, Seite 82). Bei einem LiMAx von über 74 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ nach der Operation kann mit einer Wahrscheinlichkeit von 100% (NPV) gesagt werden, dass kein operationsbedingtes Leberversagen auftritt. Dagegen entwickeln nur 55% der Patienten mit einem LiMAx von unter 74 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ zu diesem Zeitpunkt tatsächlich ein Leberversagen, der Rest der Patienten kann sich trotzdem

erholen. Die entsprechenden Werte sind in Tabelle 21 bis Tabelle 23 aufgeführt. Für das Auftreten von allgemeinen Komplikationen sind die LiMAX-Schwellenwerte natürlich deutlich höher (POD 1: 136 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$) und das NPV mit 80% schlechter. Trotzdem ist bei Patienten, die nach der Leberteilresektion einen LiMAX von über 136 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ erreichen, relativ wahrscheinlich (80%), dass sie keine schwere Komplikation entwickeln.

Auch die Dauer des postoperativen Aufenthaltes auf der Intensivstation oder im Krankenhaus zeigte einen deutlichen Zusammenhang mit dem LiMAX-Test (4.8.2.2). ROC-Analysen des LiMAX-Testes am POD 1 mit einer Intensivliegedauer von unter oder über 3 Tagen ergab relativ hohe AUROC-Werte von 0,846 (Abbildung 31). Aus dem günstigsten Schwellenwert von 90 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ folgt, dass 89% der Patienten mit einem niedrigeren Wert länger auf der Intensivstation verweilen und 82% mit einem höheren Wert nach 3 Tagen die Intensivstation bereits verlassen haben. Mit diesen günstigen Zahlen ist es somit bereits am 1. Tag nach der Leberteilresektion größtenteils möglich, den weiteren Verlauf eines Patienten zu planen.

Zusammenfassend gibt die Tabelle 28 die verschiedenen Grenzwerte mit ihren klinisch interessanten Wahrscheinlichkeiten wieder.

LiMAX am POD 1 [$\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$]	Auswirkungen
Über 136	Mit 80% Wahrscheinlichkeit keinerlei schwere Komplikationen zu erwarten.
Unter 136	Mit 54% Wahrscheinlichkeit sind schwere Komplikationen möglich.
Über 90	Mit 82% Wahrscheinlichkeit Intensivliegedauer ≤ 3 Tage.
Unter 90	Mit 89% Wahrscheinlichkeit Intensivliegedauer über 3 Tage.
Über 85	Mit 100% Wahrscheinlichkeit keine primäre schwere Leberinsuffizienz zu erwarten.
Unter 85	Mit 62% Wahrscheinlichkeit schwere Leberinsuffizienz möglich.
Unter 74	Mit 55% Wahrscheinlichkeit Leberversagen möglich.

Tabelle 28. Schwellenwerte für den LiMAX am POD 1 und die entsprechenden klinischen Auswirkungen.

Diese Schwellenwerte sind jedoch zunächst nur als Vorschläge zu betrachten und müssen in größeren Patientenkollektiven prospektiv evaluiert werden.

6 Zusammenfassung

Die Leberchirurgie hat in den letzten Jahrzehnten erhebliche Fortschritte gemacht. Durch chirurgische und anaesthesiologische Verbesserungen konnte die Mortalität und Morbidität nach Leberteilresektionen deutlich gesenkt werden, ein postoperatives Leberversagen oder eine schwere Leberinsuffizienz bleiben aber weiterhin gefürchtete Komplikationen mit einer Rate von wenigen Prozent bis zu 25% bzw. 35%. Dies ist abhängig von der Ausdehnung der Leberteilresektion und einer Leberverschädigung. Um onkologisch sinnvolle Therapie-Strategien mit, wenn möglich, radikalen Tumorresektionen bei einschätzbarem Risiko zu entwickeln, wäre es wichtig die Leberfunktionskapazität der Leber bestimmen zu können. Bisher ist hierzu kein Testsystem zuverlässig genug in der Lage, um eine individuelle Therapiesteuerung daran vorzunehmen. Dies zeigten entsprechende Vorversuche in dieser Arbeit mit dem bekannten oralen ^{13}C -Methacetin-Atemtest. Außerdem konnte ein weiterer (störender) Einfluss auf den ebenfalls bekannten Indocyaningrün (ICG)-Test im Tierversuch charakterisiert werden, der eine klinisch wichtige, direkte Testbeeinflussung durch eine mechanische Cholestase belegt.

Ziel dieser Arbeit war es daher, ein zuverlässiges und praktikables Verfahren zu entwickeln, das eine genaue Messung der maximalen quantitativen Leberfunktionskapazität mit sofortigem Ergebnis am Patientenbett erlaubt. Dieses Verfahren, der **LiMax**-Test (maximal liver function capacity based on ^{13}C -methacetin (MA) kinetics), basiert auf einer enzymkinetischen Ansatzweise mit intravenöser Substratinjektion als Bolus. ^{13}C -Methacetin wird in der Leber in einem einzigen Schritt über das Cytochrom p450 CYP1A2 demethyliert und $^{13}\text{CO}_2$ abgeatmet. Die Bolusinjektion vermeidet Einflüsse durch orale Resorption und erlaubt eine sofortige Bolus-Anflutung des ^{13}C -Methacetins in der Leber, was die Annahme einer möglichst guten Enzymauslastung in der Leber als Berechnungsgrundlage erlaubt. Eine intravenöse Zubereitung von ^{13}C -Methacetin wurde hierzu entwickelt. Um eine kinetische Analyse mit genug Datenpunkten vornehmen zu können, wurde weiterhin eine Methode entwickelt, die eine Echtzeit-Messung des $^{13}\text{CO}_2$ direkt am Patientenbett erlaubte. Hierzu war es nötig, ein bestehendes Messgerät mit der sogenannten nichtdispersiven isotopenselektiven Infrarot-Spektroskopie (NDIRS) zu modifizieren und eine Atemmaske zu bauen, die eine problemlose und praktikable Trennung von Ein- und Ausatemluft erlaubte. Die Echtzeit-Messung wurde mit konventionellen Messungen

verglichen und evaluiert. Aus den theoretischen Überlegungen einer Enzymauslastung des CYP1A2 und der Abhängigkeit der Leberleistung vom Körpergewicht heraus, wurde die Berechnungsformel für den LiMAx-Test entwickelt, mit der die maximale Umsatzrate des CYP1A2 in $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ KG bestimmt werden kann, die repräsentativ für die ganze Leber und intraindividuell vergleichbar ist.

Die Spezifität des LiMAx-Testes wurde in Messungen während der anhepatischen Phase von Lebertransplantationen nachgewiesen. Bei Messungen an 42 gesunden Probanden wurde ein Referenzbereich festgelegt (LiMAx Mittelwert $425 \pm 67 \mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$, Normalbereich ab $315 \mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$). Der LiMAx-Test wurde evaluiert im Vergleich zum verbleibenden Rest-Lebervolumen nach Leberteilresektion und zeigte hier eine sehr hohe Korrelation von $r^2=0,88$ ($p<0,001$), was eine individuelle Vorhersage für einen Patienten erlaubt. Dagegen waren die vergleichbaren Korrelationen mit dem ICG-Test ($r^2=0,39$) und dem Faktor VII ($r^2=0,26$) deutlich schlechter.

Um die Wertigkeit des LiMAx-Testes in der Leberchirurgie zu untersuchen, wurden in einer prospektiven Beobachtungsstudie 64 Patienten untersucht, die eine Leberteilresektion verschiedenen Ausmaßes, in der Mehrheit aber erweiterte Resektionen („major resections“), erhielten. Die Patienten wurden vor und am postoperativen Tag (POD) 1, 2, 3, 5, 10 und 85 mit LiMAx-Test, ICG-Test und umfangreichen Labor untersucht. Die Untersuchung mit dem LiMAx-Test war zu jedem Zeitpunkt problemlos möglich und es traten keine unerwünschten Wirkungen auf. Es zeigte sich, dass mit dem LiMAx-Test die Leberregeneration nach Leberteilresektion zuverlässig beobachtet werden konnte: 2-3 Tage nach Leberteilresektion wird die (funktionelle) Leberregeneration stark aktiviert und dann wieder herunterreguliert bis 85 Tage nach der Operation fast die Ausgangswerte erreicht sind. Mit multivariaten logistischen Regressionsanalysen wurden alle Faktoren analysiert, die zu postoperativem Leberversagen oder schwerer Leberinsuffizienz beitragen könnten. Es zeigte sich, dass nur der LiMAx am POD 1 ein signifikanter Faktor hierfür war, was bedeutet, dass der einzig entscheidende Faktor die verbleibende Rest-Funktion nach einer Leberteilresektion ist. Alle anderen bisher beschriebenen Faktoren haben dagegen keinen unabhängigen Einfluss. Auch für die Entstehung allgemeiner Komplikationen und für die Länge von Intensiv- und Krankenhausaufenthalt spielt der LiMAx eine Rolle. Durch ROC-Analysen konnten weiterhin Schwellenwerte mit hoher Relevanz für die klinische Einschätzung des postoperativen Verlaufes anhand des

LiMAx-Testes am POD 1 festgelegt werden. Da durch die Kombination des LiMAx-Testes mit einer Computertomographie-gestützten Volumetrie der Leber mit virtueller Resektionsplanung eine zuverlässige Voraussage des Wertes am POD 1 möglich erscheint, könnte die präoperative **Volumen-/Funktions-Planung** zukünftig ein entscheidendes Hilfsmittel im präoperativen Patientenmanagement werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and biliary system. Tenth Edition ed: Blackwell Science, 1997.
2. Brockmoller J, Roots I. Assessment of liver metabolic function. Clinical implications. Clin Pharmacokinet 1994;27:216-248.
3. Sakka SG. Assessing liver function. Curr Opin Crit Care 2007;13:207-214.
4. Schneider PD. Preoperative assessment of liver function. Surg Clin North Am 2004;84:355-373.
5. Kanzler S, Teufel A, Galle PR. [Liver function test to predict hepatic failure after liver resection--expensive and without clinical relevance?]. Zentralbl Chir 2007;132:267-273.
6. Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Andreoli A, De Lorenzo A, Nista EC, Miele L, et al. Review article: breath testing for human liver function assessment. Aliment Pharmacol Ther 2002;16:1977-1996.
7. Klein PD. 13C breath tests: visions and realities. J Nutr 2001;131:1637S-1642S.
8. Pfaffenbach B, Gotze O, Szymanski C, Hagemann D, Adamek RJ. [The 13C-methacetin breath test for quantitative noninvasive liver function analysis with an isotope-specific nondispersive infrared spectrometer in liver cirrhosis]. Dtsch Med Wochenschr 1998;123:1467-1471.
9. Mullin EJ, Metcalfe MS, Maddern GJ. How much liver resection is too much? Am J Surg 2005;190:87-97.
10. Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, Graf R. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation. N Engl J Med 2007;356:1545-1559.
11. Lortat-Jacob JL, Robert HG. [Well defined technic for right hepatectomy.]. Presse Med 1952;60:549-551.
12. Foster JH, Berman MM. Solid liver tumors. Major Probl Clin Surg 1977;22:1-342.
13. Jarnagin WR, Gonen M, Fong Y, DeMatteo RP, Ben-Porat L, Little S, Corvera C, et al. Improvement in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1,803 consecutive cases over the past decade. Ann Surg 2002;236:397-406; discussion 406-397.
14. Nordlinger B, Guiguet M, Vaillant JC, Balladur P, Boudjema K, Bachellier P, Jaeck D. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver. A prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients. Association Francaise de Chirurgie. Cancer 1996;77:1254-1262.

15. Arii S, Okamoto E, Imamura M. Registries in Japan: current status of hepatocellular carcinoma in Japan. Liver Cancer Study Group of Japan. *Semin Surg Oncol* 1996;12:204-211.
16. Neuhaus P, Jonas S, Settmacher U, Thelen A, Benckert C, Lopez-Hanninen E, Hintze RE. Surgical management of proximal bile duct cancer: extended right lobe resection increases resectability and radicality. *Langenbecks Arch Surg* 2003;388:194-200.
17. Riecke B, Neuhaus P, Stockmann M. Major influence of oxygen supply on $^{13}\text{CO}_2$: $^{12}\text{CO}_2$ ratio measurement by nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy. *Helicobacter* 2005;10:620-622.
18. Mansfield CD, Rutt HN. The application of infrared spectroscopy to breath CO_2 isotope ratio measurements and the risk of spurious results. *Phys Med Biol* 1998;43:1225-1239.
19. Nier AO. A Redetermination of the Relative Abundances of the Isotopes of Carbon, Nitrogen, Oxygen, Argon, and Potassium. *Physical Review* 1950;77:789-793.
20. Schoeller DA, Klein PD, MacLean WC, Jr., Watkins JB, van Santen E. Fecal ^{13}C analysis for the detection and quantitation of intestinal malabsorption. Limits of detection and application to disorders of intestinal cholyglycine metabolism. *J Lab Clin Med* 1981;97:440-448.
21. Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, Watkins JB, Klein PD. Clinical diagnosis with the stable isotope ^{13}C in CO_2 breath tests: methodology and fundamental considerations. *J Lab Clin Med* 1977;90:412-421.
22. Swart GR, van den Berg JW. ^{13}C breath test in gastroenterological practice. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1998;225:13-18.
23. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, Boutton TW. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ^{13}C -urea breath test. *Lancet* 1987;1:1174-1177.
24. Haisch M, Hering P, Fuss W, Fabinski W. A sensitive isotope selective nondispersive infrared spectrometer for $^{13}\text{CO}_2$ and $^{12}\text{CO}_2$ concentration measurements in breath samples. *Isotopes Environ Health Stud* 1994;30:247-251.
25. Braden B, Haisch M, Duan LP, Lembcke B, Caspary WF, Hering P. Clinically feasible stable isotope technique at a reasonable price: analysis of $^{13}\text{CO}_2$ / $^{12}\text{CO}_2$ -abundance in breath samples with a new isotope selective-nondispersive infrared spectrometer. *Z Gastroenterol* 1994;32:675-678.
26. Koletzko S, Haisch M, Seeboth I, Braden B, Hengels K, Koletzko B, Hering P. Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with ^{13}C -urea breath test. *Lancet* 1995;345:961-962.

27. Haisch M, Hering P, Schadewaldt P, Brösicke H, Braden B, Koletzko S, Steffen C. Biomedical application of an isotope selective nondispersive infrared spectrometer for $^{13}\text{CO}_2$ and $^{12}\text{CO}_2$ concentration measurements in breath samples. *Isotopes Environ Health Stud* 1994;30:253-257.
28. Haycock GB, Schwartz GJ, Wisotsky DH. Geometric method for measuring body surface area: a height-weight formula validated in infants, children, and adults. *J Pediatr* 1978;93:62-66.
29. Guengerich FP, Krauser JA, Johnson WW. Rate-limiting steps in oxidations catalyzed by rabbit cytochrome P450 1A2. *Biochemistry* 2004;43:10775-10788.
30. U.S. Public Health Service, Public Health Bulletin (Washington, DC) 1941;271:71.
31. Starmer GA, McLean S, Thomas J. Analgesic potency and acute toxicity of substituted anilides and benzamides. *Toxicol Appl Pharmacol* 1971;19:20-28.
32. Matsumoto K, Suehiro M, Iio M, Kawabe T, Shiratori Y, Okano K, Sugimoto T. [^{13}C]methacetin breath test for evaluation of liver damage. *Dig Dis Sci* 1987;32:344-348.
33. Klatt S, Taut C, Mayer D, Adler G, Beckh K. Evaluation of the ^{13}C -methacetin breath test for quantitative liver function testing. *Z Gastroenterol* 1997;35:609-614.
34. Adamek RJ, Goetze O, Boedeker C, Pfaffenbach B, Luybaerts A, Geypens B. ^{13}C -methacetin breath test: isotope-selective nondispersive infrared spectrometry in comparison to isotope ratio mass spectrometry in volunteers and patients with liver cirrhosis. *Z Gastroenterol* 1999;37:1139-1143.
35. Dozono A, Sakuragawa N, Suehiro M, Watanabe H. Usefulness of C-13-Methacetin Breath Test in Patients with Liver Dysfunction Caused by Valproic Acid. *Brain & Development* 1987;9:175-175.
36. Iikura Y, Iwasaki A, Tsubaki T, Akasawa A, Onda T, Katsunuma T, Miura K, et al. Study of liver function in infants with atopic dermatitis using the ^{13}C -methacetin breath test. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:189-193.
37. Krumbiegel P, Gunther K, Faust H, Mobius G, Hirschberg K, Schneider G. Nuclear medicine liver function tests for pregnant women and children. 1. Breath tests with ^{14}C -methacetin and ^{13}C -methacetin. *Eur J Nucl Med* 1985;10:129-133.
38. Braden B, Faust D, Sarrazin U, Zeuzem S, Dietrich CF, Caspary WF, Sarrazin C. C-methacetin breath test as liver function test in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:179-185.
39. Fox IJ, Brooker LG, Heseltine DW, Essex HE, Wood EH. A tricarbo-cyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Mayo Clin Proc* 1957;32:478-484.

40. Paumgartner G. The handling of indocyanine green by the liver. *Schweiz Med Wochenschr* 1975;105:1-30.
41. Heintz R, Svensson CK, Stoeckel K, Powers GJ, Lalka D. Indocyanine green: pharmacokinetics in the rabbit and relevant studies of its stability and purity. *J Pharm Sci* 1986;75:398-402.
42. Stremmel W, Wojdat R, Groteguth R, Zoedler M, Ebener T, Niederau C, Becker H, et al. [Liver function tests in a clinical comparison]. *Z Gastroenterol* 1992;30:784-790.
43. Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest* 1960;39:592-600.
44. Leevy CM, Smith F, Longueville J, Paumgartner G, Howard MM. Indocyanine green clearance as a test for hepatic function. Evaluation by dichromatic ear densitometry. *Jama* 1967;200:236-240.
45. Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005;12:16-22.
46. Imai T, Takahashi K, Goto F, Morishita Y. Measurement of blood concentration of indocyanine green by pulse dye densitometry--comparison with the conventional spectrophotometric method. *J Clin Monit Comput* 1998;14:477-484.
47. Leevy CM, Leevy CB, Howard MM: Indocyanine green and the liver. In: Davidson CS, ed. *Problems in liver diseases*. Stuttgart-New York: Georg Thieme Publishers, 1979; 42-52.
48. Seehofer D, Stockmann M, Schirmeier A, Nussler AK, Cho SY, Rayes N, Koch M, et al. Intraabdominal bacterial infections significantly alter regeneration and function of the liver in a rat model of major hepatectomy. *Langenbecks Arch Surg* 2007;392:273-284.
49. Savarino V, Mela GS, Zentilin P, Bisso G, Pivari M, Mansi C, Mele MR, et al. Comparison of isotope ratio mass spectrometry and nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy for ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1203-1208.
50. Stellaard F, Geypens B. European interlaboratory comparison of breath ¹³CO₂ analysis. *Gut* 1998;43 Suppl 3:S2-6.
51. Arroliga AC, Shehab N, McCarthy K, Gonzales JP. Relationship of continuous infusion lorazepam to serum propylene glycol concentration in critically ill adults. *Crit Care Med* 2004;32:1709-1714.
52. Chicella M, Jansen P, Parthiban A, Marlowe KF, Bencsath FA, Krueger KP, Boerth R. Propylene glycol accumulation associated with continuous infusion of lorazepam in pediatric intensive care patients. *Crit Care Med* 2002;30:2752-2756.

53. Saito A, Igarashi K, Azuma M, Ooshima H. Aggregation of p-Acetanisidide Molecules in the Under- and Super-saturated Solution and Its Effect on Crystallization. *J Chem Eng Japan* 2002;35:1133-1139.
54. Stockmann M, Riecke B, inventors; Freie Universität Berlin und Charité Universitätsmedizin Berlin, assignee. Analyseverfahren zur Bestimmung eines Organfunktionsparameters unter bevorzugter Verwendung einer wässrigen ¹³C-Methacetin-Lösung. Germany patent WO 2007/000145 A2. 2006 26.06.2006.
55. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513-1520.
56. Lemke AJ, Hosten N, Neumann K, Muller B, Neuhaus P, Felix R, Langer R. [CT volumetry of the liver before transplantation]. *Rofo* 1997;166:18-23.
57. Lemke AJ, Brinkmann MJ, Schott T, Niehues SM, Settmacher U, Neuhaus P, Felix R. Living donor right liver lobes: preoperative CT volumetric measurement for calculation of intraoperative weight and volume. *Radiology* 2006;240:736-742.
58. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg* 2004;240:205-213.
59. Levine MG. Dynamic state and half life time of human serum cholinesterase. *Experientia* 1953;9:101-103.
60. Balzan S, Belghiti J, Farges O, Ogata S, Sauvanet A, Delefosse D, Durand F. The "50-50 criteria" on postoperative day 5: an accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy. *Ann Surg* 2005;242:824-828.
61. Wilson A, Calvert RJ, Geoghegan H. Plasma cholinesterase activity in liver disease: its value as a diagnostic test of liver function compared with flocculation tests and plasma protein determinations. *J Clin Invest* 1952;31:815-823.
62. Hunton DB, Bollman JL, Hoffman HN. Studies of hepatic function with indocyanine green. *Gastroenterology* 1960;39:713-724.
63. Hunton DB, Bollman JL, Hoffman HN, 2nd. The plasma removal on indocyanine green and sulfobromophthalein: effect of dosage and blocking agents. *J Clin Invest* 1961;40:1648-1655.
64. Schneider AR, Caspary WF, Stein J. [(¹³C)-breath tests for the assessment of liver function]. *Z Gastroenterol* 2004;42:269-275.
65. Rayner CK, Horowitz M. New management approaches for gastroparesis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005;2:454-462; quiz 493.
66. Pascual M, Castilla-Cortazar I, Urdaneta E, Quiroga J, Garcia M, Picardi A, Prieto J. Altered intestinal transport of amino acids in cirrhotic rats: the effect of insulin-like growth factor-I. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:G319-324.

67. Castilla-Cortazar I, Prieto J, Urdaneta E, Pascual M, Nunez M, Zudaire E, Garcia M, et al. Impaired intestinal sugar transport in cirrhotic rats: correction by low doses of insulin-like growth factor I. *Gastroenterology* 1997;113:1180-1187.
68. Oellerich M, Burdelski M, Ringe B, Lamesch P, Gubernatis G, Bunzendahl H, Pichlmayr R, et al. Lignocaine metabolite formation as a measure of pre-transplant liver function. *Lancet* 1989;333:640-642.
69. Lee WC, Chen MF. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection: how I do it. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005;12:23-26.
70. Klapdor R, Roose HJ. [Kinetics and metabolism of i.v. injected bromsulphthalein (BSP) in man]. *Z Gastroenterol* 1971;9:665-672.
71. Rettenmaier G. [Complications during the bromsulphthalein test?]. *Dtsch Med Wochenschr* 1968;93:1780.
72. Albers I, Hartmann H, Bircher J, Creutzfeldt W. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function tests for assessing prognosis of liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1989;24:269-276.
73. Kusaka K, Harihara Y, Torzilli G, Kubota K, Takayama T, Makuuchi M, Mori M, et al. Objective evaluation of liver consistency to estimate hepatic fibrosis and functional reserve for hepatectomy. *J Am Coll Surg* 2000;191:47-53.
74. Bennett JJ, Blumgart LH. Assessment of hepatic reserve prior to hepatic resection. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005;12:10-15.
75. Takenaka K, Kanematsu T, Fukuzawa K, Sugimachi K. Can hepatic failure after surgery for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients be prevented? *World J Surg* 1990;14:123-127.
76. Lam CM, Fan ST, Lo CM, Wong J. Major hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with an unsatisfactory indocyanine green clearance test. *Br J Surg* 1999;86:1012-1017.
77. Bauer LA, Stenwall M, Horn JR, Davis R, Opheim K, Greene L. Changes in antipyrine and indocyanine green kinetics during nifedipine, verapamil, and diltiazem therapy. *Clin Pharmacol Ther* 1986;40:239-242.
78. Sharpe DA, Mitchel IM, Kay EA, McGoldrick JP, Munsch CM, Kay PH. Enhancing liver blood flow after cardiopulmonary bypass: the effects of dopamine and dopexamine. *Perfusion* 1999;14:29-36.
79. Sakka SG. Indocyanine green plasma disappearance rate during relief of increased abdominal pressure. *Intensive Care Med* 2006;32:2090-2091.
80. Stehr A, Ploner F, Traeger K, Theisen M, Zuelke C, Radermacher P, Matejovic M. Plasma disappearance of indocyanine green: a marker for excretory liver function? *Intensive Care Med* 2005;31:1719-1722.

81. Koepfel TA, Trauner M, Baas JC, Thies JC, Schlosser SF, Post S, Gebhard MM, et al. Extrahepatic biliary obstruction impairs microvascular perfusion and increases leukocyte adhesion in rat liver. *Hepatology* 1997;26:1085-1091.
82. Takaya S, Iwatsuki S, Noguchi T, Koie H, Zaghoul I, Venkataramanan R, Starzl TE. The influence of liver dysfunction on cyclosporine pharmacokinetics--a comparison between 70 per cent hepatectomy and complete bile duct ligation in dogs. *Jpn J Surg* 1989;19:49-56.
83. Melzer E, Krepel Z, Ronen I, Bar-Meir S. Recovery of hepatic clearance and extraction following a release of common bile duct obstruction in the rat. *Res Exp Med (Berl)* 1992;192:35-40.
84. Kimura T, Nakayama S, Yamao T, Kurosaki Y, Nakayama T. Pharmacokinetics of indocyanine green in rats with experimentally induced hepatic diseases. *Biol Pharm Bull* 1993;16:1140-1145.
85. Baumgartner U, Scholmerich J, Feuerstein E, Baier P, Ihling C. Repetitive short-term bile duct obstruction and relief causes reproducible and reversible bile acid regurgitation. *J Surg Res* 2003;110:222-227.
86. Cotting J, Zysset T, Reichen J. Biliary obstruction dissipates bioelectric sinusoidal-canalicular barrier without altering taurocholate uptake. *Am J Physiol* 1989;256:G312-318.
87. Braden B, Lembcke B, Kuker W, Caspary WF. ¹³C-breath tests: current state of the art and future directions. *Dig Liver Dis* 2007;39:795-805.
88. Caspary WF, Bayerdörffer AR, Behrens E. Diagnostik und Therapie der Helicobacter-pylori-Infektion. *Z.Gastroenterol.* 1996;34:392-401.
89. Epple HJ, Kirstein FW, Bojarski C, Frege J, Fromm M, Riecken EO, Schulzke JD. ¹³C-urea breath test in Helicobacter pylori diagnosis and eradication. *Scand.J Gastroenterol.* 1997;32:308-314.
90. Breyer-Pfaff U, Harder M, Egberts EH. Plasma levels of parent drug and metabolites in the intravenous aminopyrine breath test. *Eur J Clin Pharmacol* 1982;21:521-528.
91. Beuers U, Jager F, Wahllander A, Ansari H, Kirsch CM. Prognostic value of the intravenous ¹⁴C-aminopyrine breath test compared to the Child-Pugh score and serum bile acids in 84 cirrhotic patients. *Digestion* 1991;50:212-218.
92. Pauwels S, Geubel AP, Dive C, Beckers C. Breath ¹⁴CO₂ after intravenous administration of [¹⁴C]aminopyrine in liver diseases. *Dig Dis Sci* 1982;27:49-56.
93. Tugtekin I, Radermacher P, Wachter U, Barth E, Weidenbach H, Adler G, Georgieff M, et al. Comparison between the oral and intravenous L-[1-¹³C]phenylalanine breath test for the assessment of liver function. *Isotopes Environ Health Stud* 1999;35:147-156.

94. Ramachandran A, Balasubramanian KA. Intestinal dysfunction in liver cirrhosis: Its role in spontaneous bacterial peritonitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:607-612.
95. Zeuzem S. Gut-liver axis. *Int J Colorectal Dis* 2000;15:59-82.
96. Livingston EH, Passaro EP, Jr. Postoperative ileus. *Dig Dis Sci* 1990;35:121-132.
97. Ferraris R, Colombatti G, Fiorentini MT, Carosso R, Arossa W, De La Pierre M. Diagnostic value of serum bile acids and routine liver function tests in hepatobiliary diseases. Sensitivity, specificity, and predictive value. *Dig Dis Sci* 1983;28:129-136.
98. Mannes GA, Thieme C, Stellaard F, Wang T, Sauerbruch T, Paumgartner G. Prognostic significance of serum bile acids in cirrhosis. *Hepatology* 1986;6:50-53.
99. Löffler G, Petrides PE. *Physiologische Chemie*. 4. Auflage ed: Springer Verlag, 1990.
100. Furuya KN, Durie PR, Roberts EA, Soldin SJ, Verjee Z, Yung-Jato L, Giesbrecht E, et al. Glycine conjugation of para-aminobenzoic acid (PABA): a quantitative test of liver function. *Clin Biochem* 1995;28:531-540.
101. Ha-Kawa SK, Tanaka Y, Hasebe S, Kuniyasu Y, Koizumi K, Ishii Y, Yamamoto K, et al. Compartmental analysis of asialoglycoprotein receptor scintigraphy for quantitative measurement of liver function: a multicentre study. *Eur J Nucl Med* 1997;24:130-137.
102. Kwon AH, Ha-Kawa SK, Uetsuji S, Inoue T, Matsui Y, Kamiyama Y. Preoperative determination of the surgical procedure for hepatectomy using technetium-99m-galactosyl human serum albumin (99mTc-GSA) liver scintigraphy. *Hepatology* 1997;25:426-429.
103. Kwon AH, Matsui Y, Ha-Kawa SK, Kamiyama Y. Functional hepatic volume measured by technetium-99m-galactosyl-human serum albumin liver scintigraphy: comparison between hepatocyte volume and liver volume by computed tomography. *Am J Gastroenterol* 2001;96:541-546.
104. Sugai Y, Komatani A, Hosoya T, Yamaguchi K. Response to percutaneous transhepatic portal embolization: new proposed parameters by 99mTc-GSA SPECT and their usefulness in prognostic estimation after hepatectomy. *J Nucl Med* 2000;41:421-425.
105. Emery WO. Researches on organic periodides. I. Periodeides of Phenacetin, Methacetin and Triphenin. *J Am Chem Soc* 1916;38:140-150.
106. Ciccocioppo R, Candelli M, Di Francesco D, Ciocca F, Taglieri G, Armuzzi A, Gasbarrini G, et al. Study of liver function in healthy elderly subjects using the ¹³C-methacetin breath test. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:271-277.

107. Lara Baruque S, Razquin M, Jimenez I, Vazquez A, Gisbert JP, Pajares JM. ¹³C-phenylalanine and ¹³C-methacetin breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in chronic liver disease. *Dig Liver Dis* 2000;32:226-232.
108. Festi D, Capodicasa S, Sandri L, Colaiocco-Ferrante L, Staniscia T, Vitacolonna E, Vestito A, et al. Measurement of hepatic functional mass by means of ¹³C-methacetin and ¹³C-phenylalanine breath tests in chronic liver disease: comparison with Child-Pugh score and serum bile acid levels. *World J Gastroenterol* 2005;11:142-148.
109. Mion F, Queneau PE, Rousseau M, Brazier JL, Paliard P, Minaire Y. Aminopyrine breath test: development of a ¹³C-breath test for quantitative assessment of liver function in humans. *Hepatogastroenterology* 1995;42:931-938.
110. Fasoli A, Giannini E, Botta F, Romagnoli P, Risso D, Celle G, Testa R. ¹³CO₂ excretion in breath of normal subjects and cirrhotic patients after ¹³C-aminopyrine oral load. Comparison with MEGX test in functional differentiation between chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2000;47:234-238.
111. Kobayashi T, Kubota K, Imamura H, Hasegawa K, Inoue Y, Takayama T, Makuuchi M. Hepatic phenylalanine metabolism measured by the [¹³C]phenylalanine breath test. *Eur J Clin Invest* 2001;31:356-361.
112. Koeda N, Iwai M, Kato A, Suzuki K. Validity of ¹³C-phenylalanine breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in patients with liver cirrhosis and acute hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:851-859.
113. Palmer CN, Coates PJ, Davies SE, Shephard EA, Phillips IR. Localization of cytochrome P-450 gene expression in normal and diseased human liver by in situ hybridization of wax-embedded archival material. *Hepatology* 1992;16:682-687.
114. Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol* 2000;1:REVIEWS3003.
115. Ding X, Kaminsky LS. Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:149-173.
116. Bruegger L, Studer P, Schmid SW, Pestel G, Reichen J, Seiler C, Candinas D, et al. Indocyanine Green Plasma Disappearance Rate During the Anhepatic Phase of Orthotopic Liver Transplantation. *J Gastrointest Surg* 2007.
117. Vauthey JN, Abdalla EK, Doherty DA, Gertsch P, Fenstermacher MJ, Loyer EM, Lerut J, et al. Body surface area and body weight predict total liver volume in Western adults. *Liver Transpl* 2002;8:233-240.
118. Goetze O, Selzner N, Fruehauf H, Fried M, Gerlach T, Mullhaupt B. (¹³C)-methacetin breath test as a quantitative liver function test in patients with chronic hepatitis C infection: continuous automatic molecular correlation spectroscopy

- compared to isotopic ratio mass spectrometry. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:305-311.
119. Cozza KL, Armstrong SC, Oesterheld JR. Concise guide to drug interaction principles for medical practice: cytochrome P450s, UGTs, P-glycoproteins. 2nd ed. ed. Arlington, VA: American Psychiatric Publishing, Inc., 2003.
120. Faber MS, Fuhr U. Time response of cytochrome P450 1A2 activity on cessation of heavy smoking. *Clin Pharmacol Ther* 2004;76:178-184.
121. Chung WG, Kang JH, Park CS, Cho MH, Cha YN. Effect of age and smoking on in vivo CYP1A2, flavin-containing monooxygenase, and xanthine oxidase activities in Koreans: determination by caffeine metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 2000;67:258-266.
122. Jiang Z, Dragin N, Jorge-Nebert LF, Martin MV, Guengerich FP, Aklillu E, Ingelman-Sundberg M, et al. Search for an association between the human CYP1A2 genotype and CYP1A2 metabolic phenotype. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16:359-367.
123. Schoeller DA, Klein PD, Watkins JB, Heim T, MacLean WC, Jr. ^{13}C abundances of nutrients and the effect of variations in ^{13}C isotopic abundances of test meals formulated for $^{13}\text{CO}_2$ breath tests. *Am J Clin Nutr* 1980;33:2375-2385.
124. Freeman RB, Jr. Predicting the future? *Liver Transpl* 2007;13:1503-1505.
125. Mullen JT, Ribero D, Reddy SK, Donadon M, Zorzi D, Gautam S, Abdalla EK, et al. Hepatic insufficiency and mortality in 1,059 noncirrhotic patients undergoing major hepatectomy. *J Am Coll Surg* 2007;204:854-862; discussion 862-854.
126. Das BC, Isaji S, Kawarada Y. Analysis of 100 consecutive hepatectomies: risk factors in patients with liver cirrhosis or obstructive jaundice. *World J Surg* 2001;25:266-272; discussion 272-263.
127. Nagashima I, Takada T, Okinaga K, Nagawa H. A scoring system for the assessment of the risk of mortality after partial hepatectomy in patients with chronic liver dysfunction. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005;12:44-48.
128. Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973;60:646-649.
129. Child CG, Turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg* 1964;1:1-85.
130. Franco D, Capussotti L, Smadja C, Bouzari H, Meakins J, Kemeny F, Grange D, et al. Resection of hepatocellular carcinomas. Results in 72 European patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 1990;98:733-738.
131. Nagao T, Inoue S, Goto S, Mizuta T, Omori Y, Kawano N, Morioka Y. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma. Clinical features and long-term prognosis. *Ann Surg* 1987;205:33-40.

132. Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, Sasaki Y, Chang YC, Niimi K. Clinical experience with 118 hepatic resections for hepatocellular carcinoma. *Surgery* 1986;99:694-701.
133. Palmes D, Spiegel HU. Animal models of liver regeneration. *Biomaterials* 2004;25:1601-1611.
134. Heymsfield SB, Fulenwider T, Nordlinger B, Barlow R, Sones P, Kutner M. Accurate measurement of liver, kidney, and spleen volume and mass by computerized axial tomography. *Ann Intern Med* 1979;90:185-187.
135. Sandrasegaran K, Kwo PW, DiGirolamo D, Stockberger SM, Jr., Cummings OW, Kopecky KK. Measurement of liver volume using spiral CT and the curved line and cubic spline algorithms: reproducibility and interobserver variation. *Abdom Imaging* 1999;24:61-65.
136. Lemke AJ, Brinkmann MJ, Pascher A, Steinmuller T, Settmacher U, Neuhaus P, Felix R. [Accuracy of the CT-estimated weight of the right hepatic lobe prior to living related liver donation (LRLD) for predicting the intraoperatively measured weight of the graft]. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 2003;175:1232-1238.
137. Frericks BB, Caldarone FC, Nashan B, Savellano DH, Stamm G, Kirchhoff TD, Shin HO, et al. 3D CT modeling of hepatic vessel architecture and volume calculation in living donated liver transplantation. *Eur Radiol* 2004;14:326-333.
138. Lang H, Radtke A, Hindennach M, Schroeder T, Fruhauf NR, Malago M, Bourquain H, et al. Impact of virtual tumor resection and computer-assisted risk analysis on operation planning and intraoperative strategy in major hepatic resection. *Arch Surg* 2005;140:629-638; discussion 638.
139. Wigmore SJ, Redhead DN, Yan XJ, Casey J, Madhavan K, Dejong CH, Currie EJ, et al. Virtual hepatic resection using three-dimensional reconstruction of helical computed tomography angioportograms. *Ann Surg* 2001;233:221-226.
140. Court FG, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* 2002;89:1089-1095.
141. LaBrecque D. Liver regeneration: a picture emerges from the puzzle. *Am J Gastroenterol* 1994;89:S86-96.
142. Dimick JB, Cowan JA, Jr., Knol JA, Upchurch GR, Jr. Hepatic resection in the United States: indications, outcomes, and hospital procedural volumes from a nationally representative database. *Arch Surg* 2003;138:185-191.
143. Redaelli CA, Dufour JF, Wagner M, Schilling M, Husler J, Krahenbuhl L, Buchler MW, et al. Preoperative galactose elimination capacity predicts complications and survival after hepatic resection. *Ann Surg* 2002;235:77-85.
144. Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ. The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 2005;54:289-296.

-
145. Shirabe K, Shimada M, Gion T, Hasegawa H, Takenaka K, Utsunomiya T, Sugimachi K. Postoperative liver failure after major hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the modern era with special reference to remnant liver volume. *J Am Coll Surg* 1999;188:304-309.
 146. Kooby DA, Fong Y, Suriawinata A, Gonen M, Allen PJ, Klimstra DS, DeMatteo RP, et al. Impact of steatosis on perioperative outcome following hepatic resection. *J Gastrointest Surg* 2003;7:1034-1044.
 147. Capussotti L, Ferrero A, Vigano L, Sgotto E, Muratore A, Polastri R. Bile leakage and liver resection: Where is the risk? *Arch Surg* 2006;141:690-694; discussion 695.
 148. Schmucker DL. Age-related changes in liver structure and function: Implications for disease ? *Exp Gerontol* 2005;40:650-659.
 149. Grundmann R, Szillat U. [Effect of time of operation and clinic organization on postoperative complications]. *Langenbecks Arch Chir* 1989;374:84-91.

8 Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1. NDIRS-Messgerät FANci2db16.	10
Abbildung 2. O-demethylierung von ¹³ C-Methacetin in der Leber durch das Cytochrom p450 Isoenzym CYP 1A2.	13
Abbildung 3. Injektions-Setup für den ICG-Test.	17
Abbildung 4. Indocyaningrün (ICG)-Test: Messprinzip des „pulse dye densitometry“-Verfahrens zur ICG-Bestimmung im Blut.	18
Abbildung 5 . Beispielhafte Originalregistrierungen eines ICG-Tests bei einer Normalperson (links) und bei Leberversagen (rechts).	19
Abbildung 6. ICG-Test bei Ratten: Setup mit Kanüle in der Schwanzvene und Fingerclip-Sensor am Hinterlauf.	21
Abbildung 7. Ligatur des Gallengangs (D. choledochus) bei Ratten.	22
Abbildung 8. Messgeräte-Aufbau auf fahrbarem Wagen.	27
Abbildung 9. Neu entwickelte Atemmaske zur Online-Messung.	29
Abbildung 10. Schematischer Gesamtaufbau für die Online-Messung.	31
Abbildung 11. Übersicht über den Studieneinschluss und die ausgeschlossenen Patienten.	39
Abbildung 12. Oraler ¹³ C-Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten präoperativ.	46
Abbildung 13. Oraler ¹³ C-Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten am POD 2.	46
Abbildung 14. Oraler ¹³ C-Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten am POD 3.	47
Abbildung 15. Oraler ¹³ C-Methacetin-Atemtest: Einzelkurven der Patienten am POD 10.	47
Abbildung 16. Oraler ¹³ C-Methacetin-Atemtest: Patientin BI-O-08 im postoperativen Verlauf.	48
Abbildung 17. Oraler ¹³ C-Methacetin-Atemtest: Patientin KH-O-12 im postoperativen Verlauf.	49
Abbildung 18. ICG-Test bei Ratten: Histomorphologie (HE).	51
Abbildung 19. ICG-Test bei Ratten: Deutlicher Einfluss der Gallengangsligatur (BDL, ●) auf das Testergebnis im Vergleich zur Kontrolle (Sham, ○).	53
Abbildung 20. Box und Whiskers plot der $\delta^{13}C_{\infty}$ – Werte vor, direkt nach und 5 min nach 100% Sauerstoff-Inhalation.	54
Abbildung 21. Direkter Vergleich zwischen neuer Online-Messung und gleichzeitiger Beutel-Messung.	55
Abbildung 22. Exemplarische Originalregistrierung während einer Lebertransplantation in der anhepatischen Phase und nach Reperfusion.	56
Abbildung 23. Box-Plot des Normalkollektives (n=42) für den LiMAx-Wert.	57
Abbildung 24. Box-Plot der Raucher (n=15) gegenüber den Nichtraucher (n=27) des Normalkollektives.	58
Abbildung 25. Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-LiMAx.	60
Abbildung 26. Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-ICG.	60
Abbildung 27. Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-Faktor VII (FVII).	61

Abbildung 28. Box-Plot der LiMAx-Werte der überlebenden Patienten (n = 54) im Verlauf nach Leberteilresektion.	70
Abbildung 29. Lineare Darstellung des LiMAx-Verlaufes in Prozent des präoperativen Wertes (POD 0=präOP=100%).	71
Abbildung 30. Zusammenhang zwischen Intensivtagen und LiMAx am POD1.	72
Abbildung 31. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit ICU3.	73
Abbildung 32. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit Leberversagen.	80
Abbildung 33. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit schwerer Leberinsuffizienz.	81
Abbildung 34. ROC-Plot von LiMAx am POD 1 mit schweren Komplikationen.....	81
Abbildung 35. Korrelation von Lebervolumen und Körpergewicht.	99

9 Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1. Funktionen der Leber.....	1
Tabelle 2. Vorversuche – Patientencharakteristika.....	15
Tabelle 3. Patientencharakteristika bei Leberteileresektion.....	40
Tabelle 4. Zeitplan der Untersuchungen bei Patienten vor und nach Leberteileresektion im Rahmen einer prospektiven Beobachtungsstudie.....	42
Tabelle 5. Klassifikation chirurgischer Komplikationen.....	43
Tabelle 6. ICG-Test bei Ratten: Präoperatives Gewicht und Labordaten eine Stunde nach Gallengangsligatur.....	50
Tabelle 7. Anzahl der intraoperativ verabreichten Erythrozytenkonzentrate (A, EK) und Frischplasma-Einheiten (B, FFP) nach Frequenz.....	62
Tabelle 8. Vergleich der Unterschiede in OP-Zeit und intraoperativen Transfusionen (EK und FFP) zwischen verstorbenen und nicht verstorbenen Patienten.....	63
Tabelle 9. Komplikationen nach Leberteileresektion bei 64 Patienten.....	65
Tabelle 10. Deskriptive Analyse der LiMax-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.....	67
Tabelle 11. Deskriptive Analyse der INR (international normalized ratio)-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.....	67
Tabelle 12. Deskriptive Analyse der Pseudocholinesterase (PCHE)-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.....	68
Tabelle 13. Deskriptive Analyse der Faktor VII (FVII)-Werte aller 64 Patienten zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten.....	68
Tabelle 14. LiMax: Korrelations-Analyse (Pearson) zwischen allen Zeitpunkten.....	69
Tabelle 15. Kreuztabelle zwischen LiMax POD 1 und ICU3.....	74
Tabelle 16. Korrelationsanalyse zwischen der Krankenhausaufenthaltsdauer und LiMax an unterschiedlichen Tagen.....	74
Tabelle 17. Univariate Analyse der Risikofaktoren für ein Leberversagen nach Leberteileresektion.....	76
Tabelle 18. Univariate Analyse der Risikofaktoren für eine schwere Leberinsuffizienz nach Leberteileresektion.....	77
Tabelle 19. Univariate Analyse der Risikofaktoren für schwere Komplikationen nach Leberteileresektion.....	78
Tabelle 20. Multivariate logistische Regressions-Analyse für Leberversagen, schwere Leberinsuffizienz und schwere Komplikationen.....	79
Tabelle 21. ROC-Analysen für LiMax und Leberversagen.....	82
Tabelle 22. ROC-Analysen für LiMax und schwere Leberinsuffizienz.....	82
Tabelle 23. ROC-Analysen für LiMax und schwere Komplikationen.....	83
Tabelle 24. Übersicht über vorgeschlagene Tests zur Bestimmung der Leberfunktion.....	86
Tabelle 25. Negative Faktoren für die Verbreitung eines Leberfunktionstests.....	87
Tabelle 26. Einflüsse außer der Leberfunktion auf den ICG-Test.....	91
Tabelle 27. Relevante Einflussfaktoren auf den LiMax-Test.....	102
Tabelle 28. Schwellenwerte für den LiMax am POD 1 und die entsprechenden klinischen Auswirkungen.....	107

10 Abkürzungsverzeichnis

AUROC	Fläche unter der ROC-Kurve (area under the receiver operating characteristic curve)
BMI	Body Mass Index (kg/m ²)
DOB	delta over baseline
FRLV	Funktionelles Rest-Lebervolumen
ICG	Indocyaningrün
ICU	Intensivstation
KG	Körpergewicht
LiMAX	maximal liver function capacity based on ¹³ C-methacetin (MA) kinetics
mRNA	messenger Ribonucleinsäure
NDIRS	Nichtdispersive isotopenselektive Infratrospektroskopie
NPV	negativer prädiktiver Wert
PPV	positiver prädiktiver Wert
ROC	receiver operating characteristics-Analyse/ Kurve

11 Danksagung

Zu aller erst möchte ich mich bei Professor Dr. med. Peter Neuhaus, meinem Chef und Lehrer, für die Förderung und uneingeschränkte Unterstützung während der Anfertigung dieser Habilitationsschrift und für die herausragende chirurgische Ausbildung in seiner Klinik bedanken. Durch sein Vertrauen und die Schaffung von entsprechenden Freiräumen ermöglichte er es mir, eine selbstständige Arbeitsweise zu entwickeln und neue Ideen zu finden, die letztlich auch in dieser Arbeit mündeten. Gleichzeitig stand er mir immer zur richtigen Zeit mit wertvollen Anregungen und Hinweisen zur Seite.

Herrn PD Dr. Daniel Seehofer möchte ich sehr für die Unterstützung und Kooperation bei der Durchführung des tierexperimentellen Teils dieser Arbeit danken.

Auch allen anderen ärztlichen und pflegerischen Mitarbeitern der Klinik möchte ich für die Unterstützung bei der Durchführung der klinischen Studien danken.

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Prof. Dr. Peter Martus, der mich bei vielen statistischen Fragen und Analysen unterstützt hat.

Herrn Wolfram Schmitt und dem Team der Apotheke möchte ich für die Herstellung der Methacetin-Lösung danken.

Weiterhin danke ich allen Doktoranden und Doktorandinnen, die bei der Durchführung der verschiedenen Studien beteiligt waren.

Ein Dankeschön geht auch an alle Probanden, die sich als Kontrollen für eine Messung zur Verfügung gestellt haben.

Meinen Eltern danke ich sehr für die immerwährende Unterstützung und die Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit.

Mein ganz besonderer Dank geht an meine Familie und hier insbesondere an meine Frau Nele Haufs, die mich mit unermüdlicher Hilfe, Verständnis und Geduld bei der Erstellung dieser Habilitationsschrift unterstützt hat.

Eidesstattliche Erklärung

gemäß §4 Abs. 3(k) der Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin 19.02.2009

.....
Unterschrift