

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie,  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

## **DISSERTATION**

Innovative Verfahren zur verbesserten Diagnostik  
der initialen Transplantatfunktion nach Lebertransplantation

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt an der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

vorgelegt  
von Johan Friso Lock  
aus Mülheim an der Ruhr

Gutachter:           1. Priv.-Doz. Dr. med. Martin Stockmann  
                          2. Prof. Dr. med. Bertram Wiedenmann  
                          3. Priv.-Doz. Dr. med. Marcus Scherer

Datum der Promotion: 08.04.2011

# INHALTSVERZEICHNIS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. ABSTRACT .....</b>   | <b>5</b>  |
| <b>2. EINLEITUNG.....</b>  | <b>6</b>  |
| <b>3. ZIELSTELLUNG.....</b>  | <b>8</b>  |
| <b>4. METHODEN .....</b>   | <b>9</b>  |
| <b>4.1. Klinische Studien.....</b>   | <b>9</b>  |
| 4.1.1. Vorbereitende Untersuchungen.....                                   | 9         |
| 4.1.2. Lebertransplantation.....   | 10        |
| <b>4.2. Untersuchung der Leberfunktion.....</b>                            | <b>10</b> |
| 4.2.1. LiMAx-Test.....   | 10        |
| 4.2.2. Indocyaningrün (ICG)-Test.....                                      | 11        |
| <b>4.3. Statistische Auswertung .....</b>                                  | <b>11</b> |
| <b>5. ERGEBNISSE.....</b>  | <b>13</b> |
| <b>5.1. Vorbereitende Untersuchungen.....</b>                              | <b>13</b> |
| 5.1.1. Gesunde Kontrollprobanden .....                                     | 13        |
| 5.1.2. Spezifität des LiMAx-Tests .....                                    | 13        |
| 5.1.3. Untersuchung der Leberfunktion nach Leberresektion.....             | 13        |
| <b>5.2. Leberfunktionsdiagnostik nach Lebertransplantation .....</b>       | <b>15</b> |
| 5.2.1. Diagnose einer initialen Transplantatdysfunktion.....               | 15        |
| 5.2.2. Neuartige Definition der schlechten Transplantatfunktion .....      | 15        |
| 5.2.3. Vorhersage der Pharmakokinetik von Tacrolimus.....                  | 16        |
| <b>6. DISKUSSION .....</b>   | <b>17</b> |
| <b>6.1. Methodische Entwicklung des LiMAx-Tests.....</b>                   | <b>17</b> |
| <b>6.2. Diagnostische Wertigkeit dynamischer Leberfunktionstests .....</b> | <b>18</b> |
| <b>6.3. Klinische Bedeutung .....</b>                                      | <b>19</b> |
| <b>7. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>                                       | <b>20</b> |
| <b>8. ANTEILSERKLÄRUNG .....</b>   | <b>25</b> |
| <b>9. AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 1.....</b>                                   | <b>27</b> |

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>10.</b>   | <b>AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 2 .....</b>      | <b>32</b> |
| <b>11.</b>   | <b>AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 3 .....</b>      | <b>40</b> |
| <b>12.</b>   | <b>AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 4 .....</b>      | <b>49</b> |
| <b>13.</b>   | <b>AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 5 .....</b>      | <b>59</b> |
| <b>14.</b>   | <b>AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 6 .....</b>      | <b>65</b> |
| <b>15.</b>   | <b>AUSGEWÄHLTE PUBLIKATION 7 .....</b>      | <b>74</b> |
| <b>16.</b>   | <b>LEBENS LAUF .....</b>                    | <b>85</b> |
| <b>17.</b>   | <b>KOMPLETTE PUBLIKATIONS LISTE .....</b>   | <b>88</b> |
| <b>17.1.</b> | <b>Originalarbeiten .....</b>               | <b>88</b> |
| <b>17.2.</b> | <b>Weitere Publikationen .....</b>          | <b>89</b> |
| <b>17.3.</b> | <b>Abstracts und Kongressbeiträge .....</b> | <b>89</b> |
| <b>18.</b>   | <b>SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>      | <b>92</b> |
| <b>19.</b>   | <b>DANKSAGUNG .....</b>                     | <b>93</b> |

## 1. ABSTRACT

Die Lebertransplantation ist ein etabliertes Therapieverfahren zur Behandlung terminaler Lebererkrankungen. Problematisch ist allerdings die Tatsache, dass eine valide Einschätzung der Transplantatfunktion bisher erst nach einigen Tagen möglich ist, so dass in der Frühphase nach Operation noch kein optimales Therapiemanagement erfolgen kann. Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene (dynamische) Leberfunktionstests, darunter einen in der Charité neu entwickelten Test (LiMAx-Test), sowie den bekannten Indocyaningrün (ICG)-Test, auf ihre diagnostische Wertigkeit (insbesondere die prädiktiven Werte für postoperative Komplikationen) nach Lebertransplantation im Vergleich zu konventionellen laborchemischen Parametern prospektiv zu untersuchen. Hierzu wurden mehrere, darunter vorbereitende klinische Studien mit insgesamt 433 Patienten und 46 freiwilligen Probanden durchgeführt. Es zeigte sich, dass der LiMAx-Test als einziger unter den analysierten Parametern den postoperativen Verlauf nach Lebertransplantation individuell prognostizieren kann. Bei einem Trennwert von 64  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  konnte eine Re-Operation mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 92% direkt nach der Transplantation vorhergesagt werden. Eine initiale Nichtfunktion der transplantierten Leber und somit die Notwendigkeit einer Retransplantation konnte anhand des LiMAx-Tests am ersten postoperativen Tag mit identischer Genauigkeit vorhergesagt werden. Außerdem konnte der wesentliche Einfluss der Transplantatfunktion auf die Pharmakokinetik des Standardimmunsuppressivums Tacrolimus dargestellt werden. Basierend auf den Ergebnissen der ersten Auswertung wurde eine neue Definition der schlechten Transplantatfunktion anhand der postoperativen LiMAx-Werte entwickelt. Durch diese verbesserte Diagnostik kann die Behandlung in der Frühphase nach Lebertransplantation deutlich verbessert werden. Zusammengefasst konnte der neu entwickelte LiMAx-Test erstmals zeigen, dass eine direkte (dynamische) Messung der initialen Transplantatfunktion nach Lebertransplantation möglich ist und wichtige Informationen für die weitere Behandlung liefern kann.

## 2. EINLEITUNG

Seit der ersten Lebertransplantation vor über 40 Jahren [1], hat sich dieses Behandlungsverfahren zu einer etablierten Therapieoption für terminale Lebererkrankungen unterschiedlicher Genese entwickelt [2]. Alleine in Deutschland werden jährlich ca. 1.000-1.200 Lebertransplantationen durchgeführt, was jedoch vielmehr auf das begrenzte Angebot von Spenderorganen, als auf den tatsächlichen Bedarf zurückzuführen ist [3]. Das Organ- und Patientenüberleben konnte in den letzten Jahrzehnten deutlich gesteigert werden. Die durchschnittliche 5-Jahres-Überlebensrate in Europa liegt mittlerweile bei 65% [4].

Die kritische Phase nach einer Lebertransplantation mit der größten Häufung von schweren Komplikationen sind die ersten Monate, in denen die Inzidenz eines Transplantatversagens am höchsten ist [5]. Der postoperative Verlauf nach Lebertransplantation ist immer multifaktoriell bedingt und hängt von zahlreichen Organspender-, Organempfänger- und technischen Faktoren ab [6-8]. Es ist daher nicht möglich, die postoperative Transplantatfunktion und den Behandlungserfolg vor einer Transplantation individuell vorherzusagen [9,10].

Ein wichtiger prognostischer Faktor für den Krankheitsverlauf (Outcome) ist die initiale Transplantatfunktion in der frühen Phase nach Lebertransplantation [11]. Allerdings ist die direkte Bestimmung der individuellen Transplantatfunktion mit herkömmlichen Untersuchungsmethoden schwierig und nur mit begrenzter klinischer Aussagekraft möglich [12,13]. Deshalb wurden in der Vergangenheit zahlreiche Algorithmen zur Einteilung der Transplantatfunktion und Vorhersage des postoperativen Verlaufs entwickelt: Hierzu wurden diverse klinische Parameter (z.B. Galleproduktion, Ikterus, Aszites, oder Enzephalopathie) mit üblichen Laborparametern aus dem Blut (z.B. Transaminasen, Bilirubin, Albumin, oder Blutgerinnung) in Scores zusammengefasst und somit einer Einteilung der Transplantatfunktion vorgenommen [11,14-18] (siehe Tabelle 1 der ausgewählten Publikation 4). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Aussagekraft dieser Scores insbesondere in der frühen Phase (innerhalb der ersten Woche), stark eingeschränkt ist [12].

Als Ergänzung der konventionellen (statischen) Parameter der Transplantatfunktion kamen in der Vergangenheit auch so genannte dynamische Leberfunktionstests zum Einsatz [19] (siehe Tabelle 1), mit denen man die Funktion der transplantierten Leber über bestimmte Enzymfunktionen messen konnte. Trotz zahlreicher Pilotstudien konnte sich jedoch kein Testverfahren in der routinemäßigen klinischen Anwendung durchsetzen. Hauptgrund hierfür ist der Mangel an aussagekräftigen Ergebnissen, die eine Überlegenheit neuer Tests gegenüber

konventionellen Verfahren zeigen. Einzig für den Indocyaningrün (ICG)-Test wurde bisher eine reguläre klinische Zulassung für die Diagnostik der Leberfunktion erteilt.

**Table 1: Dynamische Leberfunktionstests nach Lebertransplantation**

| <b>Test</b>                    | <b>untersuchte Funktion</b>   | <b>klinische Verwendung</b>  |
|--------------------------------|---|--|
| Indocyaningrün (ICG)-Test      | Aufnahme von Indocyaningrün (ICG) in die Leberzelle/ Ausscheidung in die Galle<br>Messung der Plasmaverschwinderate (PDR) mittels nicht-invasiver transkutaner Puls-Densitometrie | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Messung der initialen Funktion und Vorhersage postoperativer Komplikationen [20-24]</li> <li>• Steuerung der Immunsuppression [25]</li> <li>• Untersuchung der postoperativen Hämodynamik [26]</li> </ul> |
| Galactose-Eliminationstest     | Dehydrogenierung von Galactose im Zytosol der Leberzelle<br>Messung der Serumkonzentration von Galactose im Verlauf nach Applikation  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Messung der initialen Funktion [22]</li> </ul>  |
| MEGX-Test [27,28]              | Abbau von Lidocain durch Zytochrom-Enzyme in der Leber zu Monoethylglycinoxylidin (MEGX)<br>Messung der Serumkonzentration von MEGX im Verlauf nach Applikation                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Messung der initialen Funktion [29]</li> <li>• Vorhersage des Überlebens [30]</li> </ul>  |
| <sup>13</sup> C-Atemtests [31] | Abbau von <sup>13</sup> C-markierten Substraten durch Zytochrom-Enzyme in der Leber (Oxidierung)<br>Ausscheidung und Messung von <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> in der Ausatemluft | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Messung der initialen Funktion mittels <sup>13</sup>C-Methionin [32], <sup>13</sup>C-Aminopyrin [32], <sup>13</sup>C-Methacetin [33] und <sup>13</sup>C-Phenylalanin [34]</li> </ul>                      |

Zusammengenommen ist eine frühzeitige Einschätzung der Transplantatfunktion nach Lebertransplantation und eine valide Prognoseabschätzung bisher nicht möglich, so dass auch schwerwiegende und interventionsbedürftige Komplikationen oft erst nach einigen Tagen sicher diagnostiziert werden können. Dies ist bei technischen Komplikationen (z.B. Gefäßstenosen oder -thrombosen) oder primären Transplantatversagen sehr problematisch, da diese eine schnelle operative Intervention bzw. Retransplantation erfordern. Da ein chronischer Mangel an Spenderorganen vorliegt, müssen jedoch auf der anderen Seite vorschnelle Entscheidungen zur Retransplantation verhindert werden. Daher ist es notwendig das Potential einer nicht-optimal funktionierenden Transplantatleber zur Regeneration sicher diagnostizieren zu können.

### 3. ZIELSTELLUNG

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene (dynamische) Leberfunktionstests, darunter einen in der Charité neu entwickelten Test (LiMAx-Test), auf ihre diagnostische Wertigkeit (insbesondere die prädiktiven Werte für postoperative Komplikationen) nach Lebertransplantation in einem großen Patientenkollektiv prospektiv zu untersuchen. Der Indocyaningrün (ICG)-Test und der neue LiMAx Test wurden mit konventionellen laborchemischen Parametern verglichen.

Zunächst wurde der neu entwickelte LiMAx-Test jedoch in mehreren vorbereitenden (klinischen) Studien methodisch auf seine grundsätzliche Reliabilität, Validität und diagnostische Wertigkeit hin untersucht.

Ziel der ersten vorbereitenden Studie war es Kenntnisse zur Pharmakokinetik des im LiMAx-Test verwendeten Testsubstrats  $^{13}\text{C}$ -Methacetin zu gewinnen und einen Normalwertebereich anhand gesunder Kontrollprobanden zu gewinnen.

Ziel der zweiten vorbereitenden Studie war die Untersuchung von Patienten vor und nach onkologischer Leberresektion. Zum einen sollte anhand der frühen postoperativen Leberfunktion der individuelle Krankheitsverlauf (insbesondere Patientenüberleben und postoperative Komplikationen) prognostiziert werden, zum anderen sollte ein Verfahren entwickelt werden, um die postoperative Leberfunktion schon vor der Operation zu berechnen. Im weiteren Verlauf wurde der LiMAx-Test ab 2009 auch in der Routinediagnostik der Charité vor onkologischen Leberresektion eingesetzt. Die dort gewonnenen Ergebnisse wurden ebenfalls ausgewertet.



## 4. METHODEN

Seit 2003 beschäftigt sich die Arbeitsgruppe von PD Dr. Martin Stockmann an der Charité - Universitätsmedizin Berlin mit innovativen Verfahren zur Diagnostik der Leberfunktion. Basierend auf der grundlegenden Methodik der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests [35-37] wurde ein neuartiger dynamischer Leberfunktionstest - der LiMAX-Test - entwickelt, der sich in seiner Methodik von den bisher beschriebenen Atemtests deutlich unterscheidet (siehe ausgewählte Publikation 2). Die Messung der Patienten erfolgt „online“ am Patientenbett ohne zusätzliche Laboruntersuchungen, im Sinne einer „Point-of-Care“ Untersuchung.

### 4.1. Klinische Studien

Alle klinischen Studien wurden vor Beginn der jeweiligen Untersuchungen von der Ethikkommission der Charité genehmigt. Die untersuchten Patienten wurden ausführlich über die medizinische Fragestellung, den Studienablauf sowie möglich Nachteile und Risiken der Studienteilnahme informiert und erklärten nach ausreichender Bedenkzeit schriftlich ihr Einverständnis.

#### 4.1.1. Vorbereitende Untersuchungen

Zunächst wurde eine größere Gruppe von freiwilligen gesunden Probanden untersucht. Bei einem Teil der Personen wurden zusätzlich der Zusammenhang von LiMAX-Messung und der tatsächlichen Serum-Pharmakokinetik von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin untersucht (siehe ausgewählte Publikation 1).

Anschließend wurde der LiMAX-Test in einer klinischen Pilotstudie bei onkologischen Leberresektionen untersucht (siehe ausgewählte Publikationen 2, 3). Der ICG-Test wurde neben den konventionellen laborchemischen Parametern als Vergleichstest verwendet. Die Leberfunktion der Patienten wurde vor der Operation, sowie 1, 2, 3, 5 und 10 Tage danach in gleichartiger Weise untersucht und mit dem Krankheitsverlauf bis 6 Monate nach Operation verglichen. Anhand einer Computertomographie wurde das präoperative Lebervolumen berechnet [38]. Während der Operation wurde das resezierte Lebervolumen ebenfalls gemessen, so dass eine Berechnung des tatsächlichen Restlebervolumens [in %] möglich war (siehe Methoden in ausgewählter Publikation 2).

Zusätzlich wurden fünf Patienten während der anhepatischen Phase einer Lebertransplantation (nach Entnahme der Empfängerleber) mittels LiMAX-Test gemessen, um die Spezifität des Tests für die Leberfunktion zu untersuchen. Nach vollständiger Hepatektomie wurde der Test gestartet

und zwei Stunden nach Reperfusion des Transplantats beendet. In der Literatur war beim ICG-Test zuvor eine gewisse Verschwinderate von ICG auch ohne Leber gezeigt worden [39].

#### **4.1.2. Lebertransplantation**

Die Untersuchung der Transplantatfunktion mittels LiMAx-Test wurde ebenfalls als klinische Pilotstudie geplant, so dass keine detaillierte Fallzahlberechnung erfolgen konnte. Bei einer angenommenen Inzidenz eines primären Transplantatversagen (PNF) von 5% wurde eine Fallzahl von 100 Lebertransplantationen vorgesehen, um eine statistische Auswertung dieser Patientengruppe zu ermöglichen. Die Studie wurde als reine Beobachtungsstudie ohne Intervention durchgeführt. Die Patienten wurden vor der Lebertransplantation in das Studienprotokoll eingeschlossen und mittels LiMAx-Test, ICG-Test und Standardlaborparametern aus dem Blut untersucht. Weitere identische Untersuchungen wurden 6 Stunden nach Reperfusion der transplantierten Leber, sowie 1, 3, 5, 10, 14 und 28 Tage nach Transplantation durchgeführt. Das Überleben und der Behandlungsverlauf der Patienten wurden bis 2 Jahre nach der Transplantation weiterverfolgt und dokumentiert. Für die Untersuchung der Bedeutung der Transplantatfunktion für die Immunsuppression wurden die Talspiegel von Tacrolimus täglich bis sieben Tage nach Operation mittels kommerziell erhältlichem ELISA-kit (IMx tacrolimus II; Abbott laboratories, USA) bestimmt. Talspiegel über 20 ng/ml wurden als toxisch, unterhalb von 5 ng/ml als insuffizient gewertet.

### **4.2. Untersuchung der Leberfunktion**

Als Vergleichstests wurden folgende laborchemische Parameter aus einer venösen Blutentnahme verwendet: Aspartat-Aminotransferase (AST), Alanin-Aminotransferase (ALT), Glutamatdehydrogenase (GLDH), Bilirubin (total und konjugiert), Ammoniak, Albumin, Prothrombinzeit, INR, Faktor II, Faktor VII, und Kreatinin. Die laborchemischen Untersuchungen wurden durch das Zentrallabor im Charité Campus Virchow Klinikum unabhängig von der klinischen Studie durchgeführt.

#### **4.2.1. LiMAx-Test**

Der LiMAx-Test wurde nach mindestens 6-stündiger Nahrungskarenz am liegenden Patienten durchgeführt. Nach Bestimmung des Ruhe-Verhältnisses von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft (sog. Baseline) wurden 2 mg/kg  $^{13}\text{C}$ -Methacetinlösung (Euriso-top, Saint-Aubin Cedex, Frankreich) intravenös im Bolus appliziert. Die Veränderung des Verhältnisses von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  wurde dann für weitere 60 Minuten gemessen (FANci2db-16, Fischer Analysen Instrumente, Leipzig). Aus der Differenz zwischen dem Maximum des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Verhältnisses und der

Baseline (Delta-over-baseline,  $DOB_{max}$ ) wurde der LiMAX-Wert nach folgender Formel

$$\text{berechnet: LiMAX} = \frac{DOB_{max} \cdot R_{PDB} \cdot P \cdot M}{BW}$$

( $R_{PDB}$ , Pee Dee belemite limestone-Verhältnis [ $^{13}C/^{12}C=0,011237$ ]; P,  $CO_2$ -Produktionsrate [300 mmol/h\* Körperoberfläche in  $m^2$ ]; M, Molekulargewicht von  $^{13}C$ -Methacetin; BW, Körpergewicht in kg; siehe Methoden in ausgewählter Publikation 2)

Die Messungen wurden gleichermaßen an beatmeten und spontan atmenden Patienten durchgeführt. Keine Messungen wurden während einer Hämodialyse durchgeführt. Anhand der LiMAX-Werte von Tag 0 und Tag 1 wurde eine Einteilung der transplantierten Patienten in Subgruppen vorgenommen (siehe ausgewählte Publikation 6, 7).

**Tabelle 2:** Gruppeneinteilung der initialen Transplantatfunktion mittels LiMAX-Test

| LiMAX-Wert                  | Einteilung der Transplantatfunktion                                |
|-----------------------------|--|
| <60 $\mu\text{g/kg/h}$      | initiale Nichtfunktion (PNF, primary nonfunction),                 |
| 60-120 $\mu\text{g/kg/h}$   | intial schlechte Transplantatfunktion (IPF, initial poor function) |
| >120-240 $\mu\text{g/kg/h}$ | mittlere intiale Transplantatfunktion (fair graft function)        |
| >240 $\mu\text{g/kg/h}$     | gute intiale Transplantatfunktion (good graft function)            |

#### 4.2.2. Indocyaningrün (ICG)-Test

Für den ICG-Test wurden 0,5 mg/kg Indocyaningrün-Lösung (ICG-Pulsion<sup>®</sup>, Pulsion AG, München) intravenös im Bolus appliziert. Die Plasmaverschwinderate wurde mittels Pulsdensitometrie (DDG- 2001K, Dye Densitogram Analyzer, Nihon Kodan, Japan) über einen Fingerclip für ca. 15 Minuten gemessen [40] und das Testergebnis automatisch errechnet (Normalwertbereich: 18%-25% /Minute) [20].

#### 4.3. Statistische Auswertung

Die deskriptive Darstellung von parametrischen Daten erfolgte als Mittelwert  $\pm$ Standardabweichung oder als Median (mit 25% und 75% Quartilen). Korrelationen wurde entsprechend der Datenskalisierung mittels Spearmans Rang-Korrelation oder Pearsons linearem Korrelationskoeffizienten analysiert. Statistische Mittelwertvergleiche erfolgten entsprechend der Datenskalisierung und -Verteilung univariat mittels Chi-Quadrat-Test, Mann-Whitney U-Test, Wilcoxon-Test, T-Test oder Varianzanalyse; multivariat mittels logistischer Regressionsanalyse. Zur Darstellung der diagnostischen Leistungsfähigkeit wurde eine Receiver Operating

Characteristic (ROC) – Kurve verwendet. Das Überleben (Patienten, Organ) wurde als Kaplan-Meier Kurve dargestellt. Gruppenunterschiede im Überleben wurden mittels Cox-Regression überprüft. Zweiseitige P-Werte  $<0,05$  wurden als statistisch signifikant gewertet.

Die statistische Auswertung wurden durch einen erfahrenen Medizinstatistiker (Prof. Dr. rer. nat. Peter Martus, Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie, Charité) unterstützt und geprüft. Alle Berechnungen wurden mittels Computersoftware SPSS 15 durchgeführt. Die gesamte Auswertung und Darstellung der Ergebnisse in den veröffentlichten Publikationen erfolgte entsprechend den Richtlinien der STARD Initiative für diagnostische Studien [41].

## 5. ERGEBNISSE

### 5.1. Vorbereitende Untersuchungen

#### 5.1.1. Gesunde Kontrollprobanden

Für eine erste Beschreibung der Normalwerte des LiMAX-Tests wurden 46 freiwillige und gesunde Kontrollprobanden mit dem neuen Test untersucht. Die gemessenen LiMAX-Werte lagen zwischen 311-575  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  mit einem Mittelwert von 425  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ . Das Maximum des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Verhältnisses in der Ausatemluft wurde dabei 10 ( $\pm 6$ ) Minuten nach der  $^{13}\text{C}$ -Methacetin Injektion erreicht (siehe ausgewählte Publikation 2).

Darüber hinaus wurde bei einigen Probanden zusätzlich die Serum-Pharmakokinetik von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin untersucht. Hier zeigte sich ein rasches Absinken der  $^{13}\text{C}$ -Methacetin Spiegel von 12,3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  nach Injektion zu 4,8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  nach 10 Minuten im Sinne der Verteilung in den verschiedenen Kompartimenten des Körpers. Nach 60 Minuten betrug der Spiegel noch 1,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , so dass bereits mehr als 80% des Substrats in der Leber abgebaut waren (siehe ausgewählte Publikation 1).

#### 5.1.2. Spezifität des LiMAX-Tests

Die Durchführung des LiMAX-Tests während der anhepatischen Phase der Lebertransplantation zeigte keinerlei Veränderung des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Verhältnisses bis zur Reperfusion der Spenderleber. Danach kam es bei allen untersuchten Patienten zu einem unmittelbaren Anstieg des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Verhältnisses als Zeichen der Funktionsaufnahme der Leber (siehe ausgewählte Publikation 2).

#### 5.1.3. Untersuchung der Leberfunktion nach Leberresektion

In der ersten Pilotstudie wurden insgesamt 64 Patienten vor und nach onkologischer Leberresektion untersucht. Anhand einer besonders selektierten Untergruppe von 23 Patienten konnte eine deutlich höhere Korrelation von residualem LiMAX und Residualvolumen ( $r=0,94$ ;  $P<0,001$ ) im Vergleich zur ICG-PDR ( $r=0,54$ ;  $P=0,006$ ) nachgewiesen werden. In der multivariaten Analyse verschiedener Prädiktoren eines postoperativen Leberversagens ( $n=9$ ) und der postoperativen Mortalität ( $n=5$ ) zeigte sich der postoperative LiMAX-Wert (Tag 1) als einziger statistisch unabhängiger Vorhersage-Parameter. Die retrospektive Vorhersage beider Komplikationen war durch den LiMAX-Test mit einer Sensitivität von jeweils 100% und einer Spezifität von  $>93\%$  möglich.

Anhand der prä- bzw. intraoperativ gemessenen Volumendaten war eine Vorhersage der postoperativ gemessenen LiMAx-Werte mit einem 95%-Konfidenzintervall von 50  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  möglich ( $r=0,85$ ;  $P<0,001$ ). Allerdings ergab sich eine mittlere Differenz von vorhergesagten und gemessenen LiMAx-Werten von  $-36(\pm 43)$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (siehe ausgewählte Publikation 2).

In der nächsten Analyse wurden 168 Patienten die an verschiedenen klinischen Beobachtungsstudien sowie 161 Patienten bei denen der LiMAx-Test als Teil der normalen präoperativen Vorbereitung eingesetzt wurde, ausgewertet. In der zweiten Patientengruppe war das Testergebnis also mitentscheidend für die Einschätzung der Operabilität und somit für das gewählte Therapieverfahren. Zunächst zeigte sich, dass bereits die bisherige Form der Patientenevaluation (Gruppe 1) diejenigen mit schlechter Leberfunktionskapazität von einer Leberresektion ausschloss ( $n=29$ ; 17,3%; medianer LiMAx 299  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ), ohne dass der LiMAx-Wert bekannt war. Da jedoch nicht die präoperative Gesamtfunktion sondern vielmehr die postoperative Residualleberfunktion der entscheidender prognostische Parameter ist, wurde ein komplexerer Algorithmus zur präoperativen Patientenevaluation vor Leberresektion entwickelt (siehe Abbildung 3, ausgewählte Publikation 3). Die LiMAx-Grenzwerte welche die unterschiedlichen Behandlungsempfehlungen definieren, basierten auf der Auswertung der klinischen Studien. Es zeigten sich signifikante Unterschiede an allen Untersuchungstagen zwischen Patienten die sich von der Operation erholten oder im Verlauf nach der Leberresektion verstarben. Bei postoperativen LiMAx-Werten unterhalb von 80  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  war die tatsächliche perioperative Patientenmortalität 38,1%, bei LiMAx-Werten zwischen 80 und 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  noch 10,5%, jedoch bei LiMAx-Werten oberhalb von 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  nur etwa 1% ( $P<0,0001$ ). Analog dazu verhielten sich die postoperative Intensivstation- und Krankenhaus -Verweildauer. In der Gruppe von Routinepatienten wurde der Unterschied zwischen den leberresezierten Patienten ( $n=89$ ; 55,3%; medianer LiMAx 356  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) und den von einer Operation abgelehnten Patienten ( $n=72$ ; 44,7%; medianer LiMAx 257  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) noch deutlicher, da insbesondere Patienten mit vorgeschädigter Leber (z.B. Leberzirrhose, chronische Virushepatitis) untersucht wurden. Die Anwendung des LiMAx-Tests in der normalen präoperativen Diagnostik führte in der Patientengruppe 2 zu einer Reduktion der perioperativen Mortalität von 9,4% auf 3,4% ( $P=0,019$ ), wobei in beiden Gruppen überwiegend erweiterte Leberteilektionen durchgeführt wurden. Darüber hinaus wurde ein neues Verfahren zur Volumen-/Funktionsanalyse entwickelt, um eine individuelle Planung der postoperativen Leberfunktion zu erreichen. Hierzu wurde der LiMAx-Test kombiniert mit einer virtuellen 3D-Leberresektion basierend auf einer besonderen

Software zur Volumenberechnung und Gefäßrekonstruktion der präoperativen Kontrastmittel-Computertomographie (Fraunhofer MEVIS, Bremen; siehe ausgewählte Publikation 3).

## **5.2. Leberfunktionsdiagnostik nach Lebertransplantation**

### **5.2.1. Diagnose einer initialen Transplantatdysfunktion**

Insgesamt konnten 99 Patienten im Zeitraum August 2005 bis Mai 2007 in die Pilotstudie eingeschlossen und entsprechend dem Studienprotokoll untersucht werden. Eine initiale Transplantatdysfunktion wurde als initiale Nichtfunktion (PNF) oder interventionspflichtige technische Komplikation mit früher Re-Operation definiert. Patienten mit diesen Komplikationen zeigten sehr geringe LiMAx-Werte von  $43 \pm 18$   $\mu\text{g/kg/h}$  im Vergleich zu den anderen Patienten mit  $184 \pm 98$   $\mu\text{g/kg/h}$  ( $P < 0,001$ ). Der LiMAx-Test war unter den analysierten Werten der einzige unabhängige prädiktive Parameter in der multivariaten Analyse. Bei einem Trennwert von  $64$   $\mu\text{g/kg/h}$  konnte eine Re-Operation mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 92% direkt nach der Transplantation vorhergesagt werden. Eine initiale Nichtfunktion der transplantierten Leber und somit die Notwendigkeit einer Retransplantation konnte anhand des LiMAx-Tests am ersten postoperativen Tag mit identischer Genauigkeit vorhergesagt werden. Mittels ICG-Test waren unmittelbar nach der Transplantation noch keine diagnostisch verwertbaren Aussagen möglich. Am ersten postoperativen Tag zeigten sich ebenfalls verringerte Werte bei Patienten mit einer Nichtfunktion, jedoch mit deutlich geringerer Trennschärfe (siehe ausgewählte Publikation 4).

Bei einigen Patienten mit ansonsten guter Transplantatfunktion wurden jedoch deutlich verringerte ICG-PDR Werte gemessen. Interessanterweise wurde bei diesen Patienten im Verlauf ein mechanischer Gallengangsverschluss diagnostiziert und dann mittels endoskopischer Cholangiographie und Stent-Einlage therapiert. Im Anschluss der Intervention kam es zu einer raschen Normalisierung der ICG-PDR Werte. Daher wurde ein direkter Einfluss eines Gallengangsverschluss auf die ICG-Exkretion angenommen, welcher in einer tierexperimentellen Studie bestätigt werden konnte (siehe ausgewählte Publikation 5).

### **5.2.2. Neuartige Definition der schlechten Transplantatfunktion**

Basierend auf den Ergebnissen der ersten Auswertung wurde eine neue Definition der schlechten Transplantatfunktion anhand der postoperativen LiMAx-Werte entwickelt (siehe Abbildung 1, ausgewählte Publikation 7). Auch der Vergleich mit bekannten Definitionen aus der Literatur [14,16] zeigte einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit den postoperativen LiMAx-Werten. Die Gruppeneinteilung der Patienten in schlechte Funktion ( $n=23$ ) und Kontrollgruppe

(n=73) ermöglichte die Vorhersage unterschiedlicher Leberparameter und des Serumkreatinins im Verlauf nach der Transplantation. Außerdem war die Einteilung eng mit postoperativen Komplikationen, insbesondere einem Nierenversagen und Dialysepflichtigkeit, sowie einer schweren Kreislaufinsuffizienz verknüpft, die in der Gruppe mit schlechter Transplantatfunktion deutlich häufiger beobachtet wurden. Die Behandlungskosten waren bei diesen Patienten median um 10.000 Euro (34,5%; P=0,049) erhöht. Unterschiede in der stationären Behandlungsdauer, sowie hinsichtlich des Organ- und Patientenüberleben in der Patientengruppe mit „schlechter Funktion“ im Vergleich zur Kontrollgruppe konnten hingegen nicht gezeigt werden. (siehe ausgewählte Publikation 7).

### **5.2.3. Vorhersage der Pharmakokinetik von Tacrolimus**

Insgesamt 93 Patienten erhielten eine postoperative Immunsuppression mit Tacrolimus (0,05 mg/kg am Tag der Transplantation, sowie 2x 0,05mg/kg am ersten postoperativen Tag, weitere Dosierung entsprechend der gemessenen Talspiegel) und Kortikoiden. Die Untersuchung der Tacrolimus Talspiegel zeigte eine breite Spannweite von 0-54,4 ng/ml innerhalb der ersten Woche. Die Inzidenz toxischer Spiegel lag insgesamt bei 44%, während insuffiziente Spiegel bei 41% der Patienten beobachtet wurden. Es wurde eine Korrelation von  $r=-0,529$  ( $P<0,0001$ ) zwischen LiMAX-Wert und den Tacrolimus-Talspiegeln berechnet. Patienten mit einer schlechten Transplantatfunktion zeigten deutlich erhöhte Talspiegel (n=24;  $20,1\pm 11,6$  ng/ml) im Vergleich zu Patienten mit guter Transplantatfunktion (n=29;  $9,5\pm 4,4$  ng/ml;  $P<0,0001$ ) (siehe ausgewählte Publikation 6).



## 6. DISKUSSION

Die zahlreichen in der Literatur beschriebenen Testverfahren zur Untersuchung der Leberfunktion deuten bereits auf eine grundsätzliche Schwierigkeit dieser Aufgabe hin: Die Leber verfügt über unterschiedliche, messbare Teilfunktionen, wobei es unklar ist, welche Teilfunktion am besten die Gesamtfunktion definiert und einen Krankheitsverlauf vorhersagen kann [35]. Gemeinsam war allen bisherigen Tests, dass sie Funktionseinschränkungen einer transplantierten Leber nicht frühzeitig darstellen konnten [12,13]. Daher mussten zahlreiche statistische Risikofaktoren, wie beispielsweise Spenderalter, Organqualität und Ischämiezeit, in die Beurteilung der Transplantatfunktion mit einbezogen werden [14,42-44]. Obwohl solche Faktoren mit einer schlechten Organfunktion korrelieren, war so jedoch im Einzelfall keine valide Bewertung der Transplantatfunktion möglich.

### 6.1. Methodische Entwicklung des LiMAX-Tests

Aus dem klinischen Bedarf für eine bessere Einschätzung der Leberfunktion ergab sich die Herausforderung ein geeignetes Testsystem zu entwickeln, dass bereits in der Frühphase nach Transplantation eine valide Messung ermöglicht. Aufgrund der relativ einfachen Durchführbarkeit wurde ein nicht-invasiver  $^{13}\text{C}$ -Atemtest zur Untersuchung der Leberfunktion ausgewählt [45,46]. Diese Testmethodik hat den Vorteil gegenüber anderen Tests, dass keine wiederholten Blutentnahmen über einen längeren Zeitraum notwendig sind, was im klinischen Alltag ein starkes Hindernis für den Einsatz des Tests bedeuten würde [47,48]. Darüber hinaus stand mit  $^{13}\text{C}$ -Methacetin ein nicht-toxisches Testsubstrat zur Verfügung, dass bereits in zahlreichen klinischen Studien zum Einsatz gekommen war [49-54]. Aufgrund der fehlenden Toxizität wurde Methacetin sogar zur Untersuchung der Leberfunktion bei Neugeborenen [55], Kindern [56] und Schwangeren [57] eingesetzt.

Allerdings wurde anstatt der üblichen oralen Applikation eine intravenöse Applikationsform gewählt. Vorrangegangene Studien hatten gezeigt, dass mittels oraler Applikation keine Unterscheidung zwischen schlechter und guter Organfunktion in den ersten drei Tagen möglich war [32,34]. Ursache hierfür ist die üblicherweise auftretende postoperative Magen- und Darm-Atonie, die insbesondere nach großen abdominalen Eingriffen, wie der Lebertransplantation, stark ausgeprägt ist. Daher kommt es zu einer erheblichen Verzögerung der Substratresorption bei oraler Applikation, was die Testergebnisse des Atemtests erheblich beeinflusst [34]. Auch andere Studien hatten bereits gezeigt, dass orale und intravenöse Applikation zu deutlich unterschiedlichen Atemtestergebnissen führen [58,59].

Um eine kinetische Analyse des Maximums im  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Verhältnisses zu ermöglichen, wurde eine Online-Atemgasanalyse am Patientenbett mit hoher Messfrequenz entwickelt. Hierzu wurde eine spezielle Atemmaske entwickelt, welche die Ausatemluft sammelt und über einen Verbindungsschlauch direkt in das Messgerät leitet, was mit einer Abnahme der bisher üblichen Atemgasbeuteln nicht praktikabel war.

Bei der Untersuchung der Pharmakokinetik von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin nach intravenöser Applikation zeigte sich ein schneller Abbau innerhalb weniger Minuten, der zeitlich eng mit dem beim LiMAX-Test verwendeten Maximum des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Verhältnisses zusammenhängt. Der schnelle enzymatische Abbau im Zytochrom P450 1A2 war bereits in der Literatur beschrieben worden, jedoch nur in einem kurzen Abstract mit geringer Fallzahl [60]. Da keine Patienten mit vorhandener Lebererkrankung insbesondere mit Leberzirrhose in dieser Kontrollstudie untersucht werden, ist noch keine Aussage zur Pharmakokinetik bei Leberschädigungen möglich. Die Untersuchung einer Gruppe von gesunden Kontrollprobanden ergab einen unteren Grenzwert von etwa  $315\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , wobei die Variabilität der Ergebnisse relativ groß war. Hier bleibt zu klären, ob deutlich höhere Messwerte überhaupt von klinischer Relevanz sind. Bei normaler Leberfunktion ist das Zytochrom P450 1A2 durch die Applikation von  $2\text{mg}/\text{kg}$   $^{13}\text{C}$ -Methacetin bei weitem noch nicht gesättigt (siehe ausgewählte Publikation 1). Bei eingeschränkter Leberfunktion kommt es jedoch mit der insgesamt geringeren Enzymkapazität zu einer Sättigung, sodass in diesem Fall keine Schwankungen der Testergebnisse nach oben zu erwarten sind. Die Untersuchung des  $^{13}\text{C}$ -Methacetins während der anhepatischen Phase der Lebertransplantation konnte die hohe Spezifität des Substrats für die Leberfunktion zeigen.

## 6.2. Diagnostische Wertigkeit dynamischer Leberfunktionstests

Wie bereits bei den Studien zur Leberresektion konnte auch nach Lebertransplantation gezeigt werden, dass die Leberfunktion effektiv mittels LiMAX-Test gemessen werden kann. Die Testergebnisse korrelieren eng mit allen anderen untersuchten Leberfunktionsparametern. Allerdings konnte der direkte Vergleich der unterschiedlichen Leberfunktionstests eine deutlich bessere diagnostische Güte des LiMAX-Tests für die untersuchten Studienendpunkte (Krankheitsverlauf/ Outcome) zeigen. Die Überlegenheit des Tests war insbesondere in der Frühphase bis 24 Stunden nach Transplantation am deutlichsten. Im Gegensatz zu allen anderen Tests war auch erstmals eine direkte Messung der Leberregeneration nach Transplantation möglich. Im Vergleich zu den Normalwerten zeigten die Transplantat -Lebern eine im Mittel um 30% verringerte Funktion, die binnen 5 Tagen normale Werte erreichten und bis zwei Wochen

weiter anstiegen. Die Standard-Laborparameter dagegen geben die Transplantatfunktion stets mit zeitlicher Verzögerung von einigen Tagen wieder, da Syntheseparameter erst gebildet oder Retentionswerte erst abgebaut werden müssen.

Der bereits in zahlreichen Studien beschriebene ICG-Test ist zwar ebenfalls für eine Abschätzung der Transplantatfunktion geeignet, wird allerdings auch von zahlreichen weiteren Faktoren beeinflusst, wie der globalen Hämodynamik [61], der Leberdurchblutung [62-64], dem Serumspiegel von Bilirubin [65,66], sowie dem ungehinderten Galleabfluss (ausgewählte Publikation 5). Diese Faktoren können in der frühen postoperativen Phase einen ganz erheblichen Einfluss haben, und schränken somit die diagnostische Wertigkeit des Tests, insbesondere die positiv prädiktiven Werte für ein Transplantatversagen deutlich ein [67].

### **6.3. Klinische Bedeutung**

Die verbesserte Diagnostik der initialen Transplantatfunktion mittels LiMAX-Test bietet das Potential, die Behandlung in der Frühphase nach Lebertransplantation deutlich zu verbessern. Unabhängig von empirischen Risikofaktoren und statischen Laborparametern kann erstmals eine individualisierte Behandlung der Patienten anhand der tatsächlichen Transplantatfunktion erfolgen. Dies kann einerseits helfen, die Entscheidungen für oder gegen bestimmte postoperative Interventionen, insbesondere die Anmeldung zur Retransplantation bei Verdacht auf ein Transplantatversagen, zu stützen; andererseits aber auch die weiteren, erforderlichen Behandlungsschritte zu planen. Beispielsweise kann bei einer schlechten Transplantatfunktion bereits frühzeitig eine längere Intensivbehandlung oder eine engmaschige Kontrolle der Patienten geplant werden, um sekundäre Komplikationen zu vermeiden. Auch die Anpassung von Medikamenten-Dosierungen an den Metabolismus in der Leber, wie am Beispiel Tacrolimus gezeigt, kann helfen, Nebenwirkungen von Überdosierungen zu vermeiden. Dagegen können Patienten mit einer sehr guten Transplantatfunktion auch frühzeitig diagnostiziert und so schneller auf eine erforderliche Rehabilitation vorbereitet werden.

Zusammengenommen konnte der neu entwickelte LiMAX-Test erstmals zeigen, dass eine direkte (dynamische) Messung der initialen Transplantatfunktion nach Lebertransplantation am Patientenbett (point of care) möglich ist und wichtige Informationen für die weitere Behandlung liefern kann. Die bisher gewonnenen Ergebnisse deuten auf eine Überlegenheit der diagnostischen Genauigkeit des LiMAX-Test gegenüber allen anderen verfügbaren Tests hin.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Starzl TE, Marchioro TL, Vonkaulla KN, et al. Homotransplantation of the Liver in Humans. *Surg Gynecol Obstet.* 1963; 117: 659-76.
2. Dutkowski P, De Rougemont O, Mullhaupt B, et al. Current and future trends in liver transplantation in Europe. *Gastroenterology.* 2010; 138: 802-9 e1-4.
3. Organspende und Transplantation in Deutschland, Jahresbericht 2009. In Frankfurt/Main, Deutsche Stiftung Organtransplantation, 2009.
4. Graft Survival according to Retransplantation. In Villejuif Cedex, European Liver Transplant Registry, 2008.
5. Varotti G, Grazi GL, Vetrone G, et al. Causes of early acute graft failure after liver transplantation: analysis of a 17-year single-centre experience. *Clin Transplant.* 2005; 19: 492-500.
6. Mueller AR, Platz KP, Kremer B. Early postoperative complications following liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004; 18: 881-900.
7. Bennett-Guerrero E, Feierman DE, Barclay GR, et al. Preoperative and intraoperative predictors of postoperative morbidity, poor graft function, and early rejection in 190 patients undergoing liver transplantation. *Arch Surg.* 2001; 136: 1177-83.
8. Desai NM, Mange KC, Crawford MD, et al. Predicting outcome after liver transplantation: utility of the model for end-stage liver disease and a newly derived discrimination function. *Transplantation.* 2004; 77: 99-106.
9. Hoot NR, Feurer ID, Austin MT, et al. Physician predictions of graft survival following liver transplantation. *HPB (Oxford).* 2007; 9: 272-6.
10. Habib S, Berk B, Chang CC, et al. MELD and prediction of post-liver transplantation survival. *Liver Transpl.* 2006; 12: 440-7.
11. Pokorny H, Gruenberger T, Soliman T, et al. Organ survival after primary dysfunction of liver grafts in clinical orthotopic liver transplantation. *Transpl Int.* 2000; 13 Suppl 1: S154-7.
12. Maring JK, Klompmaker IJ, Zwaveling JH, et al. Poor initial graft function after orthotopic liver transplantation: can it be predicted and does it affect outcome? An analysis of 125 adult primary transplantations. *Clin Transplant.* 1997; 11: 373-9.
13. Burton JR, Jr., Rosen HR. Diagnosis and management of allograft failure. *Clin Liver Dis.* 2006; 10: 407-35.
14. Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, et al. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation--a multivariate analysis. *Transplantation.* 1993; 55: 807-13.
15. Gonzalez FX, Rimola A, Grande L, et al. Predictive factors of early postoperative graft function in human liver transplantation. *Hepatology.* 1994; 20: 565-73.

16. Deschenes M, Belle SH, Krom RA, et al. Early allograft dysfunction after liver transplantation: a definition and predictors of outcome. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Transplantation*. 1998; 66: 302-10.
17. Rosen HR, Martin P, Goss J, et al. Significance of early aminotransferase elevation after liver transplantation. *Transplantation*. 1998; 65: 68-72.
18. Nanashima A, Pillay P, Verran DJ, et al. Analysis of initial poor graft function after orthotopic liver transplantation: experience of an Australian single liver transplantation center. *Transplant Proc*. 2002; 34: 1231-5.
19. Gao L, Ramzan I, Baker AB. Potential use of pharmacological markers to quantitatively assess liver function during liver transplantation surgery. *Anaesth Intensive Care*. 2000; 28: 375-85.
20. Olmedilla L, Perez-Pena JM, Ripoll C, et al. Early noninvasive measurement of the indocyanine green plasma disappearance rate accurately predicts early graft dysfunction and mortality after deceased donor liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009; 15: 1247-53.
21. Levesque E, Saliba F, Benhamida S, et al. Plasma disappearance rate of indocyanine green: a tool to evaluate early graft outcome after liver transplantation. *Liver Transpl*. 2009; 15: 1358-64.
22. Jochum C, Beste M, Penndorf V, et al. Quantitative liver function tests in donors and recipients of living donor liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006; 12: 544-9.
23. Hori T, Iida T, Yagi S, et al. K(ICG) value, a reliable real-time estimator of graft function, accurately predicts outcomes in adult living-donor liver transplantation. *Liver Transpl*. 2006; 12: 605-13.
24. Tsubono T, Todo S, Jabbour N, et al. Indocyanine green elimination test in orthotopic liver recipients. *Hepatology*. 1996; 24: 1165-71.
25. Parker BM, Cywinski JB, Alster JM, et al. Predicting immunosuppressant dosing in the early postoperative period with noninvasive indocyanine green elimination following orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl*. 2008; 14: 46-52.
26. Diaz S, Perez-Pena J, Sanz J, et al. Haemodynamic monitoring and liver function evaluation by pulsion cold system Z-201 (PCS) during orthotopic liver transplantation. *Clin Transplant*. 2003; 17: 47-55.
27. Tanaka E, Inomata S, Yasuhara H. The clinical importance of conventional and quantitative liver function tests in liver transplantation. *J Clin Pharm Ther*. 2000; 25: 411-9.
28. Reichel C, Wienkoop G, Nacke A, et al. [Monoethylglycinexylidide (MEGX)-test. A test for the assessment of prognosis before and after liver transplantation]. *Dtsch Med Wochenschr*. 1995; 120: 179-83.

29. Schutz E, Luy-Kaltefleiter M, Kaltefleiter M, et al. The value of serial determination of MEGX and hyaluronic acid early after orthotopic liver transplantation. *Eur J Clin Invest.* 1996; 26: 907-16.
30. Lamesch P, Ringe B, Oellerich M, et al. Assessment of liver function in the early postoperative period after liver transplantation with ICG, MEGX, and GAL tests. *Transplant Proc.* 1990; 22: 1539-41.
31. Festi D, Capodicasa S, Vestito A, et al. Breath tests with stable isotopes: have they a role in liver transplantation? *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2004; 8: 55-8.
32. Di Campli C, Angelini G, Armuzzi A, et al. Quantitative evaluation of liver function by the methionine and aminopyrine breath tests in the early stages of liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 15: 727-32.
33. Petrolati A, Festi D, De Berardinis G, et al. <sup>13</sup>C-methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 18: 785-90.
34. Freeman RB, Jr. L-[1-<sup>13</sup>C] phenylalanine breath test for monitoring hepatic function after liver donor liver transplantation. *J Breath Res.* 2007; 1: 026002.
35. Brockmoller J, Roots I. Assessment of liver metabolic function. Clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 1994; 27: 216-48.
36. Barstow L, Small RE. Liver function assessment by drug metabolism. *Pharmacotherapy.* 1990; 10: 280-8.
37. Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, et al. Clinical diagnosis with the stable isotope <sup>13</sup>C in CO<sub>2</sub> breath tests: methodology and fundamental considerations. *J Lab Clin Med.* 1977; 90: 412-21.
38. Lemke AJ, Brinkmann MJ, Schott T, et al. Living donor right liver lobes: preoperative CT volumetric measurement for calculation of intraoperative weight and volume. *Radiology.* 2006; 240: 736-42.
39. Bruegger L, Studer P, Schmid SW, et al. Indocyanine Green Plasma Disappearance Rate During the Anhepatic Phase of Orthotopic Liver Transplantation. *J Gastrointest Surg.* 2007; 12: 67-72.
40. Faybik P, Krenn CG, Baker A, et al. Comparison of invasive and noninvasive measurement of plasma disappearance rate of indocyanine green in patients undergoing liver transplantation: a prospective investigator-blinded study. *Liver Transpl.* 2004; 10: 1060-4.
41. Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD initiative. *BMJ.* 2003; 326: 41-4.
42. Briceno J, Solorzano G, Pera C. A proposal for scoring marginal liver grafts. *Transpl Int.* 2000; 13 Suppl 1: 249-52.

43. Mueller AR, Platz KP, Krause P, et al. Perioperative factors influencing patient outcome after liver transplantation. *Transpl Int.* 2000; 13 Suppl 1: 158-61.
44. De Carlis L, Sansalone CV, Rondinara GF, et al. Is the use of marginal donors justified in liver transplantation? Analysis of results and proposal of modern criteria. *Transpl Int.* 1996; 9 Suppl 1: 414-7.
45. Klein PD. Clinical applications of  $^{13}\text{C}$  measurements. *Fed Proc.* 1982; 41: 2698-701.
46. Klein PD.  $^{13}\text{C}$  breath tests: visions and realities. *J Nutr.* 2001; 131: 1637-42.
47. Modak AS. Stable isotope breath test in clinical medicine: a review. *J. Breath Res.* 2007; 1:
48. Modak AS:  $^{13}\text{C}$  Breath Tests: Transition from Research to Clinical Practice. in Amann A (ed): *Breath Analysis for Clinical Diagnosis and Therapeutic Monitoring.* World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2005, 457-78.
49. Pixner N, Lenz K, Müller T, et al. Three days non-invasive  $^{13}\text{C}$ -methacetin liver function breath test in healthy subjects (Abstract 930). *J Hepatol.* 2002; 36: 258.
50. Lara Baruque S, Razquin M, Jimenez I, et al.  $^{13}\text{C}$ -phenylalanine and  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in chronic liver disease. *Dig Liver Dis.* 2000; 32: 226-32.
51. Adamek RJ, Goetze O, Boedeker C, et al.  $^{13}\text{C}$ -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: 1139-43.
52. Pfaffenbach B, Gotze O, Szymanski C, et al. [The  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test for quantitative noninvasive liver function analysis with an isotope-specific nondispersive infrared spectrometer in liver cirrhosis]. *Dtsch Med Wochenschr.* 1998; 123: 1467-71.
53. Klatt S, Taut C, Mayer D, et al. Evaluation of the  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test for quantitative liver function testing. *Z Gastroenterol.* 1997; 35: 609-14.
54. Matsumoto K, Suehiro M, Iio M, et al. [ $^{13}\text{C}$ ]methacetin breath test for evaluation of liver damage. *Dig Dis Sci.* 1987; 32: 344-8.
55. Iwasaki A, Yamashita Y, Tsubaki T, et al. [Study of liver function in babies with atopic dermatitis by using  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test]. *Arerugi.* 1992; 41: 645-53.
56. Iikura Y, Iwasaki A, Tsubaki T, et al. Study of liver function in infants with atopic dermatitis using the  $^{13}\text{C}$ -methacetin breath test. *Int Arch Allergy Immunol.* 1995; 107: 189-93.
57. Krumbiegel P, Hirschberg K, Faust H, et al. Nuclear medicine liver-function tests for pregnant women and children. 2. A new test method via urine using  $^{15}\text{N}$ -methacetin. *Eur J Nucl Med.* 1985; 11: 58-61.

- 
58. Tugtekin I, Radermacher P, Wachter U, 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: 147-56.
  59. Pauwels S, Geubel AP, Dive C, et al. Breath 14CO<sub>2</sub> after intravenous administration of [14C]aminopyrine in liver diseases. *Dig Dis Sci.* 1982; 27: 49-56.
  60. Wahl HG. 13C-Methacetin breath test for hepatic function: Additional information by quantifying Methacetin and Acetaminophen by GC-MS. *Australian Gastroenterology Week.* 1996;
  61. Lehmann C, Taymoorian K, Wauer H, et al. Effects of the stable prostacyclin analogue iloprost on the plasma disappearance rate of indocyanine green in human septic shock. *Intensive Care Med.* 2000; 26: 1557-60.
  62. Caesar J, Shaldon S, Chiandussi L, et al. The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. *Clin Sci.* 1961; 21: 43-57.
  63. Leevy CM, Mendenhall CL, Lesko W, et al. Estimation of hepatic blood flow with indocyanine green. *J Clin Invest.* 1962; 41: 1169-79.
  64. Janssen MW, Druckrey-Fiskaaen KT, Omid L, et al. Indocyanine green R15 ratio depends directly on liver perfusion flow rate. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 17: 180-5.
  65. Paumgartner G. The handling of indocyanine green by the liver. *Schweiz Med Wochenschr.* 1975; 105: 1-30.
  66. Paumgartner G, Huber J, Grabner G. [Kinetics of hepatic dye absorption for indocyanine green. Influence of bilirubin and sodium glycocholate]. *Experientia.* 1969; 25: 1219-23.
  67. Sakka SG. Assessing liver function. *Curr Opin Crit Care.* 2007; 13: 207-14.



## 8. ANTEILSERKLÄRUNG

Johan Friso Lock hatte folgenden Anteil an den vorgelegten Publikationen:

**Publikation 1:** Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzhütter HG, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Interpretation of non-invasive breath tests using <sup>13</sup>C-labeled substrates - A preliminary report with <sup>13</sup>C-methacetin. European Journal of Medical Research 2009; 14: 547-50.

70 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Studiendesign, Erstellung des Ethikantrags, Betreuung der Studienmessungen, statistische Auswertung der Studiendaten, Erstellung des Manuskripts

**Publikation 2:** Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne C, Martus P, Fricke M, Lehmann S, Niehues SM, Schwabe M, Lemke A-J, Neuhaus P. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. Annals of Surgery 2009; 250: 119-25.

20 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Datenvalidierung, Datenbankkontrolle, statistische Auswertung der Studiendaten, Erstellung des Manuskripts

**Publikation 3:** Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The LiMAX test – A new liver Function test for prediction of postoperative outcome in liver surgery. HPB (Oxford) 2010; 12: 139-46.

30 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Datenvalidierung, Datenbankkontrolle, statistische Auswertung der Studiendaten, Erstellung des Manuskripts

**Publikation 4:** Lock JF, Schwabauer E, Martus P, Videv N, Pratschke J, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Early diagnosis of primary nonfunction and indication for reoperation after liver transplantation. Liver Transplantation 2010; 16: 172-80.

40 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Durchführung der Studienmessungen, Datenvalidierung, Datenbankkontrolle, statistische Auswertung der Studiendaten, Erstellung des Manuskripts

---

**Publikation 5:** Stockmann M, Malinowski M, Lock JF, Seehofer D, Neuhaus P. Factors influencing the indocyanine green (ICG) test: additional impact of acute cholestasis. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 734-8.

10 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Recherche der Patientenfälle, Zusammenstellung der Krankheitsverläufe, Überarbeitung des Manuskripts

**Publikation 6:** Lock JF, Malinowski M, Schwabauer E, Martus P, Pratschke J, Seehofer D, Puhl G, Neuhaus P, Stockmann M. Initial liver graft function is a reliable predictor of tacrolimus trough levels during the first post-transplant week. *Clinical Transplantation* 2010; Epub ahead of print.

50 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Durchführung der Studienmessungen, Datenvalidierung, Datenbankkontrolle, statistische Auswertung der Studiendaten, Erstellung des Manuskripts

**Publikation 7:** Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Puhl G, Pratschke J, Neuhaus P. How to define initial poor graft function after liver transplantation? - A new functional definition by the LiMAX test. *Transplant International* 2010; 23: 1023-32.

30 Prozent

Beitrag im Einzelnen: Durchführung der Studienmessungen, Datenvalidierung, Datenbankkontrolle, statistische Auswertung der Studiendaten, Erstellung des Manuskripts

---

PD Dr. Martin Stockmann  
betreuenden Hochschullehrer

---

Johan Friso Lock

## **16. LEBENSLAUF**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 17. KOMPLETTE PUBLIKATIONSLISTE

### 17.1. Originalarbeiten

1. Stockmann M, Malinowski M, Lock JF, Seehofer D, Neuhaus P. Factors influencing the indocyanine green (ICG) test: additional impact of acute cholestasis. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 734-8.
2. Lock JF, Reinhold T, Malinowski M, Pratschke J, Neuhaus P, Stockmann M. The costs of postoperative liver failure and the economic impact of liver function capacity after extended liver resection-a single-center experience. *Langenbecks Archives of Surgery* 2009; 394: 1047-56.
3. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne C, Martus P, Fricke M, Lehmann S, Niehues SM, Schwabe M, Lemke A-J, Neuhaus P. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. *Annals of Surgery* 2009; 250: 119-25.
4. Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzhütter HG, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Interpretation of non-invasive breath tests using <sup>13</sup>C-labeled substrates - A preliminary report with <sup>13</sup>C-methacetin. *European Journal of Medical Research* 2009; 14: 547-50.
5. Lock JF, Schwabauer E, Martus P, Videv N, Pratschke J, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Early diagnosis of primary nonfunction and indication for reoperation after liver transplantation. *Liver Transplantation* 2010; 16: 172-80.
6. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The LiMAX test – A new liver Function test for prediction of postoperative outcome in liver surgery. *HPB (Oxford)* 2010; 12: 139-46.
7. Lock JF, Malinowski M, Schwabauer E, Martus P, Pratschke J, Seehofer D, Puhl G, Neuhaus P, Stockmann M. Initial liver graft function is a reliable predictor of tacrolimus trough levels during the first post-transplant week. *Clinical Transplantation* 2010; Epub ahead of print.
8. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Puhl G, Pratschke J, Neuhaus P. How to define initial poor graft function after liver transplantation? - A new functional definition by the LiMAX test. *Transplant International* 2010; 23: 1023-32.

## 17.2. Weitere Publikationen

1. Stockmann M, Lock JF. Wie gut funktioniert meine Leber? Diagnostik der Leberfunktion mit dem LiMAx-Test. *Lebenszeichen - Das Lebermagazin* 2009; 09: 10-2.
2. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Neuhaus P. Evaluation of early liver graft performance by the indocyanine green plasma disappearance rate. *Liver Transplantation* 2010; 16: 793-4.

## 17.3. Abstracts und Kongressbeiträge

nur als Erstautor und Vortragender

1. Lock JF, Stockmann M. Influence of liver function to post transplant tacrolimus blood level after orthotopic liver transplantation. 18<sup>th</sup> European Students' Conference, Berlin, Germany. *European Journal of Medical Research* 2007; 12(Supplement 4): 189.
2. Lock JF, Schwabauer E, Videv N, Neuhaus P, Stockmann M. Regeneration der Leberfunktionskapazität (LiMAx-Test) im ersten Jahr nach Lebertransplantation. 19. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, Wilsede, Germany. *Transplantationsmedizin* 2008; Supplement I: 4.
3. Lock JF, Videv N, Schwabauer E, Neuhaus P, Stockmann M. Influence of maximal liver function capacity on toxic tacrolimus blood levels after orthotopic liver transplantation. 14<sup>th</sup> Congress of the International Liver Transplantation Society (ILTS), Paris, France. *Liver Transplantation* 2008; 14: 110
4. Lock JF, Schwabauer E, Videv N, Stockmann M. Prompt prediction of postoperative liver associated complications after orthotopic liver transplantation by assessment of maximal liver function capacity (LiMAx-Test). 19<sup>th</sup> European Students' Conference, Berlin, Germany. *European Journal of Medical Research* 2008; 13(Supplement 1): 158.
5. Lock JF, Neuhaus P, Stockmann M. Ökonomische Bedeutung des postoperativen Leberversagens und der Leberfunktion nach Leberteileresektion. 25. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber (GASL), Heidelberg, Germany. *Zeitschrift für Gastroenterologie* 2009; 47(1): 137.
6. Lock JF, Videv N, Schwabauer E, Neuhaus P, Stockmann M. What is initial poor graft function after liver transplantation and how does it affect outcome and prognosis? – A new functional definition from a prospective clinical trial. 5<sup>th</sup> Winter Meeting of the European

- 
- Liver Transplantation Association (ELITA), Are, Sweden. *Transplant International* 2009; 22(Supplement 1): 2.
7. Lock JF, Riecke B, Niehues SM, Martus P, Fricke M, Lehmann S, Neuhaus P, Stockmann M. Prediction of the outcome after liver surgery by a new bedside test for liver function capacity - the LiMAX Test. *Breath* 2009 – International Association for Breath Research, Dortmund, Germany.
  8. Lock JF, Schwabauer E, Videv N, Neuhaus P, Stockmann M. Frühzeitige quantitative Bestimmung der initialen Transplantatfunktion nach Lebertransplantation zur Vorhersage des postoperativen Verlaufs. 126. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie (DGCH), München, Germany. *German Medical Sciences* 2009.
  9. Lock JF, Videv N, Schwabauer E, Neuhaus P, Stockmann M. The Connection between Initial Graft Function and Tacrolimus Blood Levels after Orthotopic Liver Transplantation. 9<sup>th</sup> American Transplant Congress, Boston MA, USA. *American Journal of Transplantation* 2009; 9(Supplement 2): 687.
  10. Lock JF, Reinhold T, Bloch A, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Die gesundheitsökonomische Bedeutung des postoperativen Leberversagens in der Leberchirurgie. 20. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, Wilsede, Germany. *Transplantationsmedizin* 2009; Supplement I: 4.
  11. Lock JF, Reinhold T, Neuhaus P, Stockmann M. The costs of postoperative liver failure after hepatectomy and preventive strategies in a prospective pilot study. 8<sup>th</sup> Congress of the European Hepato-Pancreatico-Biliary Association (EHPBA), Athens, Greece. *HPB (Oxford)* 2009; 11(Supplement 2): 29.
  12. Lock JF, Schwabauer E, Videv N, Neuhaus P, Stockmann M. Prediction of tacrolimus blood levels during the first week after liver transplantation by the new LiMAX test. 14<sup>th</sup> Congress of the European Society of Organ Transplantation (ESOT), Paris, France. *Transplant International* 2009; 22(Supplement 2): 323.
  13. Lock JF, Reinhold T, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Die Kosten der onkologischen Leberresektion - Bedeutung des Operationsverfahrens und der postoperativen Leberfunktion. *Viszeralmedizin* 2009 - 3. gemeinsame Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaften der Deutschen Gesellschaft für Allgemein und Viszeralchirurgie (DGAV), Hamburg, Germany.

14. Lock JF, Malinowski M, Pratschke J, Neuhaus P, Stockmann M. Bedeutung der Transplantfunktion für die Tacrolimustherapie nach Lebertransplantation. 18. Jahrestagung der Deutschen Transplantationsgesellschaft (DTG), Berlin, Germany. *Transplantationsmedizin* 2009; Supplement II: 154-155.
15. Lock JF, Westphal T, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Zytostatische Chemotherapie vor operativer Resektion colorektaler Lebermetastasen – Einfluss auf die präoperative Leberfunktion. 26. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber (GASL), Bonn, Germany. *Zeitschrift für Gastroenterologie* 2010; 48(1): 179.
16. Lock JF, Westphal T, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Einfluss einer zytostatischen Chemotherapie auf die Leberfunktion und die Resektabilität colorektaler Lebermetastasen – Ergebnisse einer klinischen Pilotstudie. 127. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie (DGCH), Berlin, Germany. *German Medical Sciences* 2010.
17. Lock JF, Westphal T, Malinowski M, Neuhaus P, Stockmann M. Impact of neoadjuvant chemotherapy in colorectal liver metastases on liver function before hepatectomy. 9<sup>th</sup> World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association, Buenos Aires, Argentina. *HPB (Oxford)* 2010; 12(Supplement 1): 268.
18. Lock JF, Malinowski M, Biele S, Neuhaus P, Stockmann M. Quantitative liver function capacity in cirrhotic patients before transplantation. 6<sup>th</sup> Annuals Meeting of the European Liver Transplantation Association (ELITA), London, UK. *Transplant International* 2010; 23(Supplement 1): 12.
19. Lock JF, Malinowski M, Pratschke J, Neuhaus P, Stockmann M. Transplantatfunktion-adaptierte Dosierung von Tacrolimus nach Lebertransplantation – Planung einer Multi-Center-Studie. 21. Workshop für experimentelle und klinische Lebertransplantation und Hepatologie, Wilsede, Germany. *Transplantationsmedizin* 2010; Supplement II: 5.

## 18. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

„Ich, Johan Friso Lock, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: *Innovative Verfahren zur verbesserten Diagnostik der initialen Transplantatfunktion nach Lebertransplantation* selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

---

Datum

---

Unterschrift



---

## 19. DANKSAGUNG

Zuallererst möchte ich dem betreuenden Hochschullehrer dieser Promotion Herrn Privatdozent Dr. med. Martin Stockmann herzlich danken, für das Angebot zur Anfertigung dieser Arbeit, für die über viele Jahre reichende, kontinuierliche und stets hervorragende fachliche Unterstützung, für die gegebenen Freiräume zur Entwicklung eigener Fragestellungen und Projekte in der klinischen Forschung, sowie für die Möglichkeit zur erfolgreichen Publikation und Präsentation der Studienergebnisse auf diversen nationalen und internationalen Fachkongressen.

Des Weiteren bin ich besonders dankbar für die erfolgreiche Zusammenarbeit mit folgenden Wissenschaftlern: Prof. Dr. med. Peter Neuhaus, der mich bei der Auswertung der Studiendaten und der Anfertigung der Publikationen kritisch, doch immer konstruktiv begleitet und meine wissenschaftliche Tätigkeit in der Charité stets gefördert hat. Prof. Dr. rer. nat. Peter Martus, vom dem ich viel über die Grundlagen der medizinischen Statistik und die praktische Auswertung von Studiendaten lernen konnte, und der die statistischen Auswertungen der gesamten Arbeit persönlich begleitet hat. Prof. Dr. med. Johann Pratschke, der mich oft kurzfristig aber immer sehr effektiv bei der Revision von eingereichten Publikationen unterstützt hat. Prof. Dr. rer. nat. Holzhütter für die effektiven Diskussionen und Anregungen zur Interpretation der Messergebnisse insbesondere im Bereich der Pharmakokinetik. Dr. rer. nat. Steffen Bauer, für die Entwicklung und Validierung der Methode zur Bestimmung des Methacetins im Serum. Herr Dr. med. Maciej Malinowski für die langjährige Unterstützung sämtlicher Forschungsprojekte. Eugen Schwabauer, Nikolay Videv und Sina Lehmann für die gute und zuverlässige Zusammenarbeit bei den klinischen Messungen, der Studierendokumentation und der Datenbankverwaltung.

Auch der Firma Astellas Pharma GmbH Deutschland bin ich für die finanzielle Unterstützung der klinischen Pilotstudie und zahlreicher Kongressreisen zu besonderem Dank verpflichtet.

Abschließend möchte ich den vielen Ärzten und Pflegern der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie, und insbesondere dem Team des Transplantationsbüros für die praktische Unterstützung der klinischen Studie danken, ohne die eine erfolgreiche Durchführung nicht möglich gewesen wäre.