

Aus der Chirurgischen Klinik  
Campus Charité Mitte | Campus Virchow-Klinikum  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

**Dissertation**

Einfluss der Bikarbonatdynamik und der Lungenfunktion auf die Testergebnisse von  $^{13}\text{C}$ -  
Atemtests

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Julia Charlotte Mohr  
aus Bonn

Datum der Promotion: 03.12.2021

---

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>I Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>5</b>
<b>II Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>8</b>
<b>III Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>11</b>
<b>IV Zusammenfassung.....</b>	<b>12</b>
<b>V Abstract.....</b>	<b>14</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Überblick über die verschiedenen Ansätze zur Bestimmung der Leberfunktion .....</b>	<b>15</b>
<b>1.2 <sup>13</sup>C-Atemtests – Entwicklung und klinische Anwendung.....</b>	<b>16</b>
1.2.1 LiMAX-Test als Beispiel für <sup>13</sup> C-Atemtests .....	17
1.2.1.1 Berechnung des LiMAX-Wertes und Darstellung der grafischen Aufarbeitung ..	18
1.2.1.2 Messmethode des LiMAX-Tests .....	19
<b>1.3 Das Bikarbonat-Kohlenstoff-System – Grundlage zum Verständnis von <sup>13</sup>C-</b>	
<b>Atemtests.....</b>	<b>20</b>
1.3.1 Modelle der Bikarbonatkinetik und –verteilung im Körper.....	21
1.3.2 Zwei-Kompartimentmodell .....	21
1.3.3 Drei-Kompartimentmodell .....	22
<b>2. Fragestellung .....</b>	<b>24</b>
<b>3. Methodik.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Patientenkollektiv und Studiendesign.....</b>	<b>26</b>
3.1.1 Ethikkommission .....	26
3.1.2 Einschlusskriterien.....	26
3.1.3 Ausschlusskriterien .....	27
<b>3.2 Durchführung der Studienmessungen .....</b>	<b>27</b>
3.2.1 Laborwerte.....	28
3.2.2 Bestimmung der Leberfunktion mittels LiMAX-Test .....	29
3.2.2.1 Durchführung in der Studie .....	29
3.2.3 Bikarbonatmessungen .....	31
3.2.3.1 Durchführung.....	32
3.2.3.2 Grafische Darstellung und Auswertung der Messdaten.....	33
3.2.3.3 Berechnung des Bikarbonat-LiMAX in Matlab und Excel.....	33

---

3.2.4 Lungenfunktionsdiagnostik .....	37
3.2.4.1 Durchführung.....	37
3.2.4.2 Grundlagen der Lungenfunktionsdiagnostik .....	37
<b>3.3 Statistik .....</b>	<b>39</b>
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Patientenkollektiv .....</b>	<b>40</b>
<b>4.2 Allgemeine und leberspezifische Patientencharakteristika.....</b>	<b>41</b>
<b>4.3 LiMAx-Test.....</b>	<b>47</b>
4.3.1 LiMAx und leberspezifische Patientencharakteristika .....	47
<b>4.4 LiMAx-Test nach Bikarbonat Studienprotokoll .....</b>	<b>53</b>
4.4.1 Vergleich von LiMAx und Bikarbonat-LiMAx .....	55
4.4.2 Bikarbonat-LiMAx und leberspezifische Patientencharakteristika .....	64
4.4.3 Bikarbonat-LiMAx und die Nierenfunktion.....	67
4.4.4 Exponentieller Fit, AUC Daten und Abfall der Bikarbonatkurve .....	68
<b>4.5 Lungenfunktionsdiagnostik.....</b>	<b>74</b>
4.5.1 Patientencharakteristika .....	74
4.5.2 Beeinflusst die Lungenfunktion die CO <sub>2</sub> -Abatmung nach <sup>13</sup> C-Bikarbonatgabe? .....	76
4.5.3 Beeinflusst die Lungenfunktion den LiMAx? .....	78
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>81</b>
<b>5.1 Hintergrund der Studie .....</b>	<b>81</b>
<b>5.2 Limitationen der Studie.....</b>	<b>82</b>
5.2.1 Patientenkollektiv .....	82
5.2.1.1 Heterogenität und Repräsentativität des Patientenkollektivs .....	83
5.2.1.2 Altersverteilung im Patientenkollektiv.....	84
5.2.2 LiMAx .....	85
5.2.2.1 Mögliche Einflussfaktoren auf den LiMAx-Test und offene Fragen.....	85
5.2.2.2 Wiederholungsgenauigkeit des LiMAx-Tests .....	87
<b>5.3 Bikarbonatmessungen .....</b>	<b>87</b>
5.3.1 Einschränkungen bei der Durchführung und Auswertung der reinen Messdaten .....	88
5.3.2 Einschränkungen bei der Auswertung der Messdaten hinsichtlich potentieller Einflussfaktoren.....	89
5.3.3 Einschränkungen hinsichtlich des Bikarbonatpools .....	91
<b>5.4 Lungenfunktionsmessungen .....</b>	<b>93</b>

---

<b>5.5 Fazit.....</b>	<b>95</b>
<b>6. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>96</b>
<b>VI Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>105</b>
<b>VII Lebenslauf.....</b>	<b>106</b>
<b>VIII Publikationsliste .....</b>	<b>108</b>
<b>IX Danksagung .....</b>	<b>109</b>

**I Abkürzungsverzeichnis**

Buchstabe	Abkürzung	
A	AFP	alpha-Fetoprotein
	AUC	Area under the Curve/Fläche unter der Kurve
	AP	alkalische Phosphatase
	AST	Aspartat-Aminotransferase
	ALT	Alanin-Aminotransferase
B	BW	Body Wight
	BMI	Body Mass Index
	Bikarbonat-LiMAx	LiMAx-Test nach Bikarbonat Studienprotokoll
C	C	Kohlenstoff
	<sup>12</sup> C	Kohlenstoffisotop mit 12 Neutronen
	<sup>13</sup> C	Kohlenstoffisotop mit 13 Neutronen
	CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
	CYP	Cytochrom P
	CRLM	kolorektale Lebermetastasen
	CCC	cholangio-celluläres Carcinom
	CEA	carcinoembryonales Antigen
	Ca 19-9	Carbohydrate-Antigen 19-9
	CO	Kohlenstoffmonooxid
	COPD	chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
CT	Computertomographie	
D	DOB <sub>max</sub>	maximale Delta Over Baseline
	dl	Deziliter
E		
F	FLIP	fast liver investigation package
	FEV <sub>1</sub>	Einsekundenkapazität
	FVC	forcierte Vitalkapazität
	FEV1/FV	Tiffenau-Index
G	GFR	glomeruläre Filtrationsrate
	GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
	GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase

	gamma-GT	$\gamma$ -Glutamytransferase
H	H <sup>+</sup> -Ionen	Wasserstoffionen
	HCC	hepato-celluläres Carcinom
	He	Helium
I	IQR	Interquartilsabstand
	INR	International Normalized Ratio
	ICC	Intraklassen Korrelationskoeffizient
J		
K	kg	Kilogramm
L	LiMAx	maximal liver function capacity test
	LTX	Lebertransplantation
	l	Liter
	ln	Logarithmus
M	MBT	methacetin breath test
	M	Molare Masse
	MRT	Magnetresonanztomographie
	MELD	Model for endstage liver disease
	MEF25/50/75	maximale expiratorische Fluss bei 50% bzw. 25% der Vitalkapazität
	ml	Milliliter
	mmol	Millimol
	mg	Milligramm
	min	Minuten
	MTA	Medizinisch-Technische/r Angestellte/r
N	NBT	non-invasive breath-test
	NaCl	Natriumchlorid
	nl	Nanoliter
O		
P	P	Erwartete CO <sub>2</sub> -Produktionsrate (300 (mmol/h) x Körperoberfläche)
	PEF	peak expiratory flow
	Pa	Pascal
	PCHE	Pseudocholinesterase

Q

R  $R_{PDB}$  Pee Dee Belemnite Standard der  $^{13}CO_2/^{12}CO_2$  Ratio  
( $R_{PDB} = 0,011237$ )

rpm revolutions per minute

RV Residualvolumen

S sec Sekunden

T TIPS transjugulärer intrahepatischer portosystemischer Shunt

TLCO CO-Transferfaktor

Tau Zeitkonstante

TLC totale Lungenkapazität

TGV thorakales Gasvolumen

U U/kU Unit/kiloUnit

V  $VO_2$  maximale Sauerstoffaufnahme

VC Vitalkapazität

V/t Volumenstromstärke

$VC_{in}$  inspiratorische Vitalkapazität

W

X

Y

Z

18G, 20G internationale Einheit Gauge

## II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Grundlegendes Prinzip von $^{13}\text{C}$ -Atemtest aus <i>Lock, J.F. et al. "Interpretation of non-invasive breath tests using (13)C-labeled substrates--a preliminary report with (13)C-methacetin." Eur J Med Res (26)</i> .....	17
Abbildung 2: Messprinzip des LiMAX-Tests (entnommen von der Humedics Firmen Website, (40)).....	19
Abbildung 3: Schematische Darstellung des Drei-Kompartimentmodells aus <i>Irving, CS et al. „[13C]bicarbonate kinetics in humans: intra- vs. interindividual variations“ Am J Physiol (45)</i> .....	22
Abbildung 4: Grafische Darstellung der Bikarbonatabatmungskurve und der Methacetinabatmungskurve in Matlab (Beispielproband, y-Achse DOB, x-Achse Zeit in sec)..	34
Abbildung 5: Grafische Darstellung der gefitteten Kurve bezogen auf die Abatmungskurve von $^{13}\text{CO}_2$ (Beispielproband, y-Achse DOB, x-Achse Zeit in sec) .....	35
Abbildung 6: Grafische Darstellung der berechneten AUC-Flächen unter der Bikarbonatabatmungskurve, in Gelb wird hier die Fläche unter dem Peak dargestellt (Beispielproband, y-Achse DOB, x-Achse Zeit in sec) .....	36
Abbildung 7: Studienpopulation vom 1.05.2016-31.01.2018 .....	40
Abbildung 8: Lebererkrankungen der Patienten, im Vergleich für die Analysen berücksichtigte Patienten MIT Bikarbonat-LiMAX und Patienten OHNE Bikarbonat-LiMAX (gruppiertes Balkendiagramm).....	41
Abbildung 9: Darstellung der LiMAX- und Bikarbonat-LiMAX-Werte von Patienten und Probanden im Vergleich (Boxplot mit Messwerten als Median, die y-Achse stellt die LiMAX-Werte dar) .....	44
Abbildung 10: Verteilung der LiMAX-Werte bezogen auf die zugrundliegende Lebererkrankung, gesunde Probanden als Gruppe „keine Lebererkrankung“ (Boxplot mit Messwerten als Median) .....	45
Abbildung 11: Individuelle Darstellung der LiMAX- und Bikarbonat-LiMAX-Werte je Studienteilnehmer als Liniendiagramm.....	46
Abbildung 12: LiMAX-Werte für die Gruppen Patient/Proband für die Altersgruppen >50 Jahre und ≤50 Jahre (Boxplot mit den Messwerten als Median).....	47
Abbildung 13: Darstellung des LiMAX und des MELD-Scores bei Patienten (Scatterplot).....	48
Abbildung 14: Zusammenhang zwischen LiMAX-Wert und GOT bzw. GPT als Scatterplot.....	49
Abbildung 15: LiMAX und PCHE im Scatterplot.....	50

Abbildung 16: LiMAx und Bilirubin im Scatterplot.....	51
Abbildung 17: Median des Bilirubins bezogen auf die Höhe des LiMAx eingeteilt in die Gruppen: normaler LiMAx, erniedrigter LiMAx zwischen 150 und 315 µg/kg/h, sehr niedriger LiMAx <150 µg/kg/h und gesunde Probanden (Boxplot).....	52
Abbildung 18: Tabelle zur multiplen Regressionsanalyse unter Einbezug der Transaminasen und der PCHE.....	52
Abbildung 19: Grafische Darstellung der gemittelten Bikarbonatkurven für Patienten und Probanden im Vergleich (DOB <sub>max</sub> /Zeit in min).....	53
Abbildung 20: Grafische Darstellung der Bikarbonatkurven vom höchsten DOB-Wert nach Bikarbonatgabe bis zum DOB-Wert bei Beginn der Methacetin-Gabe für alle Studienteilnehmer .....	54
Abbildung 21: Boxplot zur Darstellung der medianen absoluten Differenz zwischen dem LiMAx-Wert und dem Bikarbonat-LiMAx-Wert für Patienten und Probanden .....	55
Abbildung 22: Balkendiagramm zur Darstellung der Differenz von LiMAx-Wert und Bikarbonat-LiMAx-Wert für jeden Studienteilnehmer (1&2 absolute Werte Proband – Patient, 3&4 Angaben in Prozent Proband-Patient) .....	58
Abbildung 23: Liniendiagramm zur Darstellung der Dynamik zwischen LiMAx und Bikarbonat-LiMAx für jeden Studienteilnehmer (1 Probanden, 2 Patienten) .....	60
Abbildung 24: Liniendiagramm zur Darstellung der individuellen Wiederholungsgenauigkeit eingeteilt in die vier Gruppen nach Höhe des LiMAx-Wertes (1 normaler LiMAx >315 µg/kg/h, 2 erniedrigter LiMAx zwischen 150 und 315 µg/kg/h, 3 stark erniedrigter LiMAx <150 µg/kg/h und 4 gesunde Probanden).....	62
Abbildung 25: Boxplot zur Darstellung der Differenz zwischen dem LiMAx nach Standardprotokoll und dem Bikarbonat-LiMAx in 3 Gruppen ein (Differenz < -15%, > 15% und zwischen -15% und 15%) in Bezug zum absoluten LiMAx-Wert (1) bzw. Bikarbonat-LiMAx-Wert (2).....	64
Abbildung 26: Scatterplot zur Darstellung des Bikarbonat-LiMAx-Wertes und dem MELD-Score.....	65
Abbildung 27: Darstellung des Bikarbonat-LiMAx-Wertes und der Transaminasen (1) bzw. der PCHE (2) .....	66
Abbildung 28: Darstellung des Bikarbonat-LiMAx-Wertes und dem Serum-Kreatinin (mg/dl) (1) bzw. der GFR (ml/min) (2) als Scatterplot.....	68
Abbildung 29: Fittingcurves für jeden individuellen Studienteilnehmer (1 Probanden, 2 Patienten).....	70

---

Abbildung 30: Vergleich der AUC-Werte für Patienten und Probanden (Boxplot mit den Messwerten als Median) .....	71
Abbildung 31: AUC unter dem Peak bezogen auf den LiMAx-Wert als Scatterplot.....	72
Abbildung 32: AUC unter der Bikarbonatkurve in Bezug auf den Serum-Kreatinin-Wert (in mg/dl) als Scatterplot.....	73
Abbildung 33: Darstellung der Lungenfunktionsparameter und dem Parameter des Kurvenabfalls Tau als Scatterplot.....	77
Abbildung 34: Scatterplot zur Darstellung des LiMAx-Wertes bzw. Bikarbonat-LiMAx-Wertes sowie der entsprechenden $DOB_{max}$ in Bezug auf das thorakale Gasvolumen .....	79

**III Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Variablendefinitionen nach Stockmann, M et al. (34).....	18
Tabelle 2: Testutensilien für den LiMAx-Test und den Bikarbonat-LiMAx-Test .....	30
Tabelle 3: Patientencharakteristika (angegeben als Median $\pm$ Interquartilsabstand).....	42
Tabelle 4: AUC Daten im Überblick.....	70
Tabelle 5: Lungenfunktionsparameter (Median (IQR)) .....	75

## IV Zusammenfassung

**Hintergrund:** Erkrankungen der Leber spielen in unserer Gesellschaft eine bedeutende Rolle.  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, wie der in dieser Studie untersuchte LiMAX-Test, haben dabei ein großes klinisches Potential zur nicht-invasiven Leberfunktionsmessung. Diese Studie hat das Ziel, die Abatmungskinetik sowie die Reproduzierbarkeit des Atemtestes besser zu charakterisieren.

**Methoden:** In die prospektive Studie wurden 21 gesunde Probanden und 26 lebererkrankte Patienten eingeschlossen. Es wurden ein Standard LiMAX-Test, Laboruntersuchungen sowie eine an die Studienfragen adaptierte Testversion des LiMAX-Tests mit vorheriger Applikation von  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat durchgeführt und die Messdaten im Anschluss analysiert. Zusätzlich erhielten 19 Probanden und 18 Patienten eine Lungenfunktionsuntersuchung mittels Bodyplethysmographie.

Fragestellung dieser Untersuchung war es, ob die Abatmung von  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoffdioxid durch Bikarbonatapplikation sowie von der Lungenfunktion der Testperson beeinflusst wird und ob interindividuelle Unterschiede hinsichtlich der  $^{13}\text{CO}_2$ -Abatmung nach  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat-Applikation detektiert werden können. Zur Charakterisierung der Bikarbonatkinetik wurden die Flächen unter der Bikarbonatkurve (AUC) für verschiedene Kurvenabschnitte sowie Parameter für den Kurvenabfall bestimmt.

**Ergebnisse:** In unserer Studie zeigte sich im Median ein LiMAX-Wert von 395,00  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (302-476  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ). Für die Probanden lag der Wert bei 424  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (381-510  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ), für die Patienten bei 364,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (164,3-472,3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,069$ ). Bei der durchschnittlichen absoluten Differenz zwischen den Werten vom LiMAX und dem Bikarbonat-LiMAX zeigte sich kein signifikanter Unterschied (Probanden: 42,81  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (15,92-106,35  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  ( $p = 0,305$ )); Patienten: 72,86  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (14,44-99,14  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , ( $p = 0,424$ ), Probanden vs. Patienten  $p = 0,649$ ). Die mittlere Differenz zwischen dem LiMAX und dem Bikarbonat-LiMAX in Prozent lag bei den Probanden bei 3,29% (-4,35-18,87%), bei den Patienten bei 0,71% (-16,92-17,20%). Für unsere Studienpopulation zeigte sich die Wiederholungsgenauigkeit mit einem ICC von 0,931 (KI 0,876-0,961) durch die vorherige Bikarbonat-Gabe unverändert im Vergleich zu Voruntersuchungen.

Hinsichtlich der Bikarbonatkinetik zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen Probanden und Patienten. Für die Fläche unter dem Bikarbonat-Peak konnte eine schwache Korrelation zum LiMAX-Test gezeigt werden (Korrelationskoeffizient ,339,  $p = 0,02$ ).

Hinsichtlich der Lungenfunktion zeigten lediglich 3 Studienteilnehmer einen auffälligen Befund. Ein signifikanter Effekt auf die LiMAX-Werte konnte nicht gezeigt werden.

**Schlussfolgerung:** Es konnte in dieser heterogenen Studienpopulation kein signifikanter Einfluss der Applikation von Bikarbonat auf den folgenden LiMAX-Test festgestellt werden. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den erhobenen Parametern der Bikarbonatkinetik zwischen gesunden Probanden und lebererkrankten Patienten. In dieser Studienpopulation fanden sich keine Hinweise dafür, dass Lebererkrankungen Auswirkungen auf die erhobenen Parameter der Bikarbonatkinetik haben.

**V Abstract**

**Background:** Liver disease is a major burden for patients and society. Liver function tests, like the LiMAX test used in this study, have an enormous potential to be a diagnostic tool for non-invasive but still precise liver function evaluation. With this study we aim to improve the understanding of breath kinetics involved.

**Methods:** In this prospective clinical study, 21 healthy volunteers and 26 patients with a history of liver disease were enrolled. Every participant received a LiMAX-test, laboratory values and an adapted version of the LiMAX-test with previous application of labeled  $^{13}\text{C}$ -bicarbonate. Additionally, 19 healthy volunteers and 18 patients underwent lung function testing. The objective was to investigate the effect of  $^{13}\text{C}$ -bicarbonate application on the breath recovery of  $^{13}\text{CO}_2$  and the correlation of interindividual differences in recovery and lung function with the LiMAX-test results.

**Results:** In our study population the median LiMAX was 395,00  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (302-476  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ), the LiMAX values of the healthy volunteers were not significantly higher as the values in the patient population (424  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (381-510  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) vs 364,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (164,3-472,3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,069$ ). The average absolute difference between LiMAX und bicarbonate-LiMAX values showed no significance (healthy volunteers: 42,81  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (15,92-106,35  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  ( $p = 0,305$ )); patients: 72,86  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (14,44-99,14  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , ( $p = 0,424$ ), healthy volunteers vs. patients  $p = 0,649$ ). The average difference in percent was 3,29% (-4,35-18,87%) for the healthy volunteers and 0,71% (-16,92-17,20%) for the patients. The reproducibility characterized by the ICC was not influenced by the previous application of  $^{13}\text{C}$ -bicarbonate (0,931 (0,876-0,961) in comparison to previous studies.

The parameters of bicarbonate kinetics showed no significant difference between patients and healthy volunteers. The area under the bicarbonate peak showed a weak correlation with the LiMAX values (,339,  $p = 0,02$ ).

Only 3 participants showed a pathologic lung function test, a significant influence on the LiMAX results was not shown.

**Conclusion:** In this heterogenous study population no significant effect of  $^{13}\text{C}$ -bicarbonate application on the breath recovery of  $^{13}\text{CO}_2$  during the LiMAX-test was found, no significant interindividual differences in recovery could be detected.

## 1. Einleitung

### 1.1 Überblick über die verschiedenen Ansätze zur Bestimmung der Leberfunktion

Die Leber bildet das größte Stoffwechselorgan des Menschen und übernimmt lebenswichtige Funktionen im Bereich der Verdauung, der Entgiftung, der Gerinnung, der Speicherung und Bereitstellung von Nährstoffen sowie in der Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Haushaltes (1, 2). Aufgrund der wichtigen Rolle der Leber für den Stoffwechsel führen Erkrankungen der Leber zu schwerwiegenden Einschränkungen, die nur schwer mit Hilfe eines einzigen Testverfahrens zu erfassen sind (3, 4). Infolge der großen Funktionsreserve der Leber kommt es jedoch erst bei schwerwiegenden Funktionseinschränkungen zu klinischen Symptomen, eine klinische Erstpräsentation als dekompenzierte Leberzirrhose ist nicht selten die Folge (5). Aus diesem Grund kommt der frühzeitigen Diagnostik von Leberkrankungen eine hohe Bedeutung zu.

Als Goldstandard zur Diagnostik von Lebererkrankungen, insbesondere zur Diagnostik von Leberfibrose und Leberzirrhose, galt lange die Leberbiopsie (6). Diese kann histopathologisch genaue Informationen über den Schweregrad der Erkrankung und der Entzündung geben (7). Neben dem Nachteil der Invasivität kann sie gleichwohl keine Aussage über die tatsächlich verbleibende Funktion der Leber mit ihren vielfältigen Stoffwechselfunktionen treffen, da hier bei gleichem Erkrankungsgrad sehr große interindividuelle Unterschiede zu beobachten sind (8-11).

Um die Leberfunktion zu bestimmen, wurden in der Vergangenheit sowohl statische als auch dynamische Leberfunktionstests sowie radiologische Testverfahren eingesetzt (12, 13). Zu den statischen Parametern der Leberfunktion zählen unter anderem die leberspezifischen Syntheseprodukte wie Albumin, die Gerinnungsfaktoren oder Gallensäuren, aus denen eine Abschätzung der Leberfunktion möglich ist (14). Diese haben allerdings aufgrund von interindividuell unterschiedlichen Syntheseraten oder Schwankungen in der Ausscheidung über Niere und Darm nur eine begrenzte Aussagekraft.

Atemtests mit dem Kohlenstoffisotop  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$ -Atemtest im Verlauf) stellen inzwischen einen wichtigen Bestandteil der dynamischen Leberfunktionsdiagnostik dar (7, 15, 16). Sie erlauben die quantitative in vivo Untersuchung von Enzymaktivität, Organfunktionen und Transportvorgängen im Rahmen einer nicht-invasiven und somit patientenfreundlichen diagnostischen Methode (17). Es konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit hoher Sensitivität und Spezifität eine Abgrenzung von Patienten mit beginnender Zirrhose

(Stadium Child A) und ohne Zirrhose möglich ist (18). Sie besitzen enormes Potential für einen umfangreicheren Einsatz in der Routinediagnostik (9).

## 1.2 $^{13}\text{C}$ -Atemtests – Entwicklung und klinische Anwendung

Seit den 1970er und 1980er-Jahren werden  $^{13}\text{C}$ -Atemtests für die klinische Anwendung erforscht. Seit 1987 wird der  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest, einer der am besten validierten  $^{13}\text{C}$ -Atemtests der Medizin, für die Diagnostik einer Infektion der Magenschleimhaut mit dem Bakterium *Helicobacter Pylori* eingesetzt. Dieser Test wurde erstmalig beschrieben von Graham et al. (19). Dabei wird  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff durch die Urease des Bakteriums hydrolysiert und  $^{13}\text{CO}_2$  abgeatmet. Inzwischen wird der Test in Studien auch zur Evaluation der Therapieeffektivität verschiedener Medikamentenkombinationen eingesetzt.

Das zugrunde liegende Prinzip von nicht-invasiven Atemtests ist folgendes: ein  $^{12}\text{C}$ -Kohlenstoffatom einer funktionellen, kohlenstoffhaltigen chemischen Gruppe wird durch ein  $^{13}\text{C}$ -Isotop im Substrat der Wahl, das spezifisch für das Ziel-Enzym im zu untersuchenden metabolischen Signalweg ausgewählt wurde, ersetzt, sodass ein stabiles, nicht-radioaktives  $^{13}\text{C}$ -haltiges Molekül entsteht (20, 21). Durch eine Enzym-Substrat-Interaktion im zu untersuchenden Gewebe resultiert als endgültiges Stoffwechselendprodukt Kohlenstoffdioxid, in diesem Fall  $^{13}\text{CO}_2$ .  $^{13}\text{CO}_2$  wird in den zentralen Bikarbonatpool eingeschleust und anschließend abgeatmet, wobei der Anteil des  $^{13}\text{CO}_2$  am insgesamt abgeatmeten  $\text{CO}_2$  verschiedene Aussagen implementiert. Es zeigt eine enzymatische Umsetzung des  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrats im menschlichen Körper an. Die Menge des abgeatmeten  $^{13}\text{CO}_2$  korreliert dabei mit der Aktivität des geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes, der Aktivität des ausgewählten Zielenzyms, sodass die quantitative Messung des  $^{13}\text{CO}_2$  somit eine indirekte in vivo Bestimmung der Pharmakokinetik und Evaluation der Enzymaktivität ermöglicht (20, 22-25).

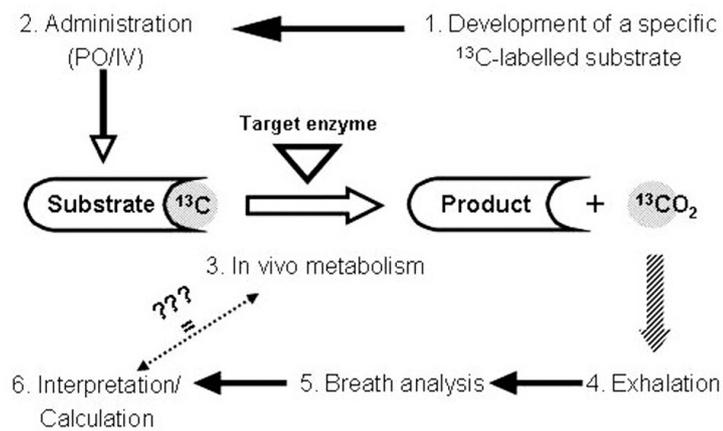


Abbildung 1: Grundlegendes Prinzip von  $^{13}\text{C}$ -Atemtest aus *Lock, J.F. et al. "Interpretation of non-invasive breath tests using ( $^{13}\text{C}$ )-labeled substrates--a preliminary report with ( $^{13}\text{C}$ )-methacetin." Eur J Med Res (26)*

### 1.2.1 LiMAX-Test als Beispiel für $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Im Rahmen von Nicht-invasiven Atemtests (NBT) für die Leberfunktionsdiagnostik wurden bereits verschiedene Substrate untersucht: Aminopyrine, Galaktose, Phenylalanine, Methacetin (27). Dabei nutzen die  $^{13}\text{C}$ -Atemtests verschiedene Metabolisierungswege für Xenobiotika, wonach sie in drei Gruppen eingeteilt werden können: mikrosomal, mitochondrial und zytosolisch (25).

Im Rahmen von Atemtests, die Substrate nutzen, die mikrosomale Enzymkomplexe als Zielstrukturen haben, werden vor allem Enzyme der Cytochrom P450 Familie (CYP450) getestet, die in engem Zusammenhang mit der Elimination von toxischen Substanzen und Medikamenten stehen (28, 29).

In vielen Studien wurde  $^{13}\text{C}$ -markiertes Methacetin als Tracersubstanz eingesetzt. Methacetin hat sich in niedrigen Dosen als nicht toxisch gezeigt. Es wird exklusiv über die Leber metabolisiert und ermöglicht somit die quantitative Darstellung der CYP450 abhängigen Leberfunktion (30). Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt im Rahmen der Metabolisierung ist dabei die O-Dealkylierung von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin über CYP1A2 in  $^{13}\text{C}$ -Acetaminophen und  $^{13}\text{CO}_2$  (21, 30-33).

In vielen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass der LiMAX-Test (Liver MAXimum function capacity, LiMAX, Humedics GmbH, Berlin, Germany), der in der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationsmedizin der Charité-Universitätsmedizin Berlin entwickelt wurde,

ein adäquates diagnostisches Mittel ist, um die präoperative Leberfunktion von Patienten vor Leberteilresektion beurteilen zu können und um Zirrhose-Patienten im Rahmen einer Lebertransplantation prä- und postoperativ prognostisch einschätzen zu können (34-38). Ein Wert von  $>315\mu\text{g/kg/h}$  wurde im Rahmen einer Studie an lebergesunden Probanden als Normwert definiert (38).

Für den LiMAX-Atemtest wird, im Unterschied zu anderen Methacetin-Atemtests (MBT), intravenös zu verabreichendes  $^{13}\text{C}$ -Methacetin verwendet, um die gastrointestinale Passage und Resorption umgehen zu können. Bei oraler Gabe von Methacetin war durch die gastrointestinale Passage die Absorption von Methacetin deutlich verzögert, eine unmittelbare und komplette Aufnahme der Substanz in die Leber nicht gewährleistet, die Bioverfügbarkeit interindividuell unterschiedlich und so die Vergleichbarkeit und Aussagekraft des Tests deutlich reduziert (34).

#### 1.2.1.1 Berechnung des LiMAX-Wertes und Darstellung der grafischen Aufarbeitung

In dieser Studie und bei diesem Messgerät wurde das Messergebnis des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests als LiMAX-Wert (in  $\mu\text{g/kg/h}$ ) ausgegeben (34).

Der LiMAX-Wert stellt einen definierten Parameter zur Darstellung der Leberfunktion dar. Der Wert setzt sich wie folgt zusammen:

$$LiMAX = \frac{DOB_{max} \times R_{PDB} \times P \times M}{BW}$$

**Tabelle 1: Variablendefinitionen nach Stockmann, M et al. (34)**

<b>DOB<sub>max</sub></b>	Maximaler Delta Over Baseline Wert (innerhalb von 60 Minuten)
<b>R<sub>PDB</sub></b>	Pee Dee Belemnite Standard der $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ Ratio ( $R_{PDB} = 0,011237$ )
<b>P</b>	Erwartete $\text{CO}_2$ -Produktionsrate ( $300 \text{ (mmol/h)} \times \text{Körperoberfläche}$ )
<b>M</b>	Molare Masse von $^{13}\text{C}$ -Methacetin
<b>BW</b>	Körpergewicht der Testperson in kg

Da die Applikation des  $^{13}\text{C}$ -Methacetins intravenös erfolgt und so Schwankungen der Substratverfügbarkeit durch Unterschiede in z.B. der gastrointestinalen Resorption vermieden werden, stellt der LiMAX-Wert die aktuell maximal erreichbare Umsatzrate von Methacetin am

CYP1A2 Enzym dar. Dies repräsentiert die aktuell maximale Leberfunktionskapazität, die bei diesem Patienten erreichbar ist (26, 34).

### 1.2.1.2 Messmethode des LiMAx-Tests

Wurden zu Beginn der LiMAx-Messungen noch zu bestimmten Zeitpunkten Atemproben vom Patienten gewonnen und analysiert (34), erfolgt die Messung inzwischen kontinuierlich (37). Dies wurde auch in dieser Studie mit einem Messgerät der Firma Humedics (Fast liver investigation package (FLIP2) ®; Humedics GmbH, Berlin, Germany), einem Quantenkaskadenlaser, umgesetzt. Das Gerät führt eine kontinuierliche Messung durch und zeigt alle 25s einen über diesen Zeitraum gemittelten Messwert an. Die einzelnen Messpunkte werden als Graph dargestellt, wobei jeder Messpunkt als „Delta Over Baseline“ (DOB) in Abhängigkeit von der Zeit im Minuten dargestellt wird (35, 39). Die genaue Messdurchführung im Rahmen der Studienmessungen wird unter dem Punkt 3.2 genauer beschrieben, eine grobe Darstellung des Messprinzips kann der Abbildung 2 entnommen werden.

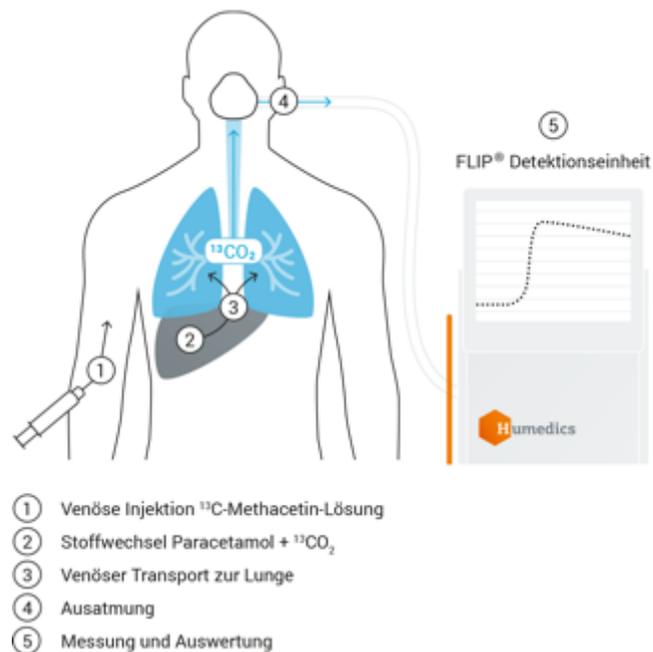


Abbildung 2: Messprinzip des LiMAx-Tests (entnommen von der Humedics Firmen Website, (40))

### 1.3 Das Bikarbonat-Kohlenstoff-System – Grundlage zum Verständnis von $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Das Bikarbonat-Kohlenstoff-System ist von grundlegender Bedeutung für das Verständnis und die Interpretation von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests und stellt eine der beiden großen Kategorien von Einflussfaktoren auf das Testergebnis von MBT dar.

Alle Atemtests beruhen auf der Annahme, dass mit Hilfe der Bestimmung des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses in der Ausatemluft eine valide Ableitung der Metabolisierungsrate möglich ist. Die Kinetik von  $^{13}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft spiegelt jedoch nicht die Kinetik der enzymatischen Umwandlung in  $^{13}\text{CO}_2$  in der Leber wieder, da  $^{13}\text{CO}_2$  systemisch in verschiedene Körperkompartimente verteilt wird und somit erst mit Verzögerung in das Blutplasma und somit in die Lunge gelangt (41, 42). Verschiedene Studien zur Kohlenstoffdioxidverteilung ( $\text{CO}_2$ ) im menschlichen Körper konnten große interindividuelle Unterschiede in der Verteilung und Elimination von  $\text{CO}_2$  zeigen (43-45).

Aus diesem Grund spielen das Bikarbonat-Kohlenstoff-System, das vielfältige Funktionen im menschlichen Körper erfüllt, sowie die verschiedenen Modelle der Bikarbonatverteilung im Organismus eine entscheidende Rolle für das Verständnis und die Interpretation von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests.

Vor allem das Bikarbonat-Kohlensäure-Puffersystem dürfte als das wichtigste Puffersystem des Organismus und wichtigste Transportform von  $\text{CO}_2$  ein entscheidender Faktor sein. Es handelt sich um ein offenes Puffersystem, wobei die Bikarbonatkonzentration über die Niere und die Menge an  $\text{CO}_2$  über die Lunge reguliert wird. Nach der Henderson-Hasselbach-Gleichung muss das Verhältnis immer 20:1 Bikarbonat zu  $\text{CO}_2$  betragen (46).

Bikarbonat kann dabei von der Niere und der Leber erzeugt oder ausgeschieden werden.

In der Niere wird es im Austausch mit  $\text{H}^+$ -Ionen ausgeschieden, in der Leber wird es zur Ausscheidung von Ammoniak im Harnstoffzyklus verbraucht, wobei der entstehende Harnstoff wiederum über die Niere ausgeschieden werden kann (46).

Als Transportform von  $\text{CO}_2$  wird Bikarbonat darüber hinaus in verschiedensten Stoffwechselwegen in Mikro- und Makromolekülen als Carboxylgruppe eingebaut, beispielsweise in Oxalacetat im Rahmen der Glukoneogenese in der Leber oder im Rahmen des Citratzyklus (43, 45, 47).

Einen großen Bikarbonat- bzw.  $\text{CO}_2$ -Speicher stellt vor allem der Knochen dar (45, 48).

### 1.3.1 Modelle der Bikarbonatkinetik und –verteilung im Körper

Die Vorstellungen zur Bikarbonat-Kinetik beruhen auf linearen Modellen, die durch experimentelle Untersuchungen mit Bolusgaben von  $^{13/14}\text{C}$ -Bikarbonat oder  $^{13/14}\text{C}$ -Natriumbikarbonat mit anschließender Messung von  $^{13/14}\text{CO}_2$  in der abgeatmeten Luft geformt wurden. Über die Modellstruktur bestehen jedoch weitere Diskussionen, es existieren Zwei- und Drei-Kompartimentmodelle (45, 49). Am gängigsten sind die 3-Kompartimentmodelle von Steele, R et al. von 1955 (50) und Shipley, RA et al. von 1959 (51) sowie die 2-Kompartimentmodelle von Fowle, AS et al. von 1960 (52) und Winchell, HS et al. von 1970 (53), wobei die 3-Kompartimentmodelle in Studien häufiger nachfolgend adaptiert und validiert worden sind, so zum Beispiel von Irving, CS et al. (45), Barstow, TJ et al. von 1990 (43) und Saccomani, MP et al. (49).

Gemeinsam ist beiden Modellen, dass sie jeweils einen zentralen Bikarbonatpool vorsehen, in den der Zu- und Abfluss von Bikarbonat und somit auch die Verteilung des Bikarbonats erfolgt, unter anderem die Abatmung in Form von Kohlenstoffdioxid.

### 1.3.2 Zwei-Kompartimentmodell

Winchell, HS et al. zeigten 1970 in ihren Untersuchungen, dass der  $\text{CO}_2$  Austausch zwischen Blut und Gewebe Membran unabhängig ist. Sie nutzten  $^{14}\text{C}$ -markierte Substanzen, um ein 2-Kompartiment-Modell für den menschlichen Körper zu erstellen. Dieses beinhaltete einen zentralen Pool, bestehend aus Blut und Geweben mit hoher Perfusion (z.B. abdominal und thorakal). Mit diesem Pool erfolgte in der Studie eine Vermischung mit dem hinzugegebenen  $^{14}\text{CO}_2/^{14}\text{C}$ -Bikarbonat innerhalb der ersten drei Minuten. Der zweite Pool repräsentierte Gewebe mit geringerer Perfusion, wie Skelettmuskeln oder Knochen, mit denen ein deutlich langsamerer Austausch als mit Kompartiment eins erfolgt. Respiratorische und nicht-respiratorische Verluste gehen aus dem ersten Pool hervor, zum Beispiel durch eine Fixierung in Knochen oder den Verlust über Urin/Schweiß (53). „Kompartiment drei“ beschreibt in der Publikation nur die Menge an Kohlenstoffdioxid/Bikarbonat im Messgerät.

Im Modell von Fowle, AS et al. erfolgt eine Unterteilung in extra- und intrazelluläres Kompartiment, wobei die nicht-respiratorischen Verluste über einen großen und langsam austauschenden Pool, wie zum Beispiel Knochen, abgehen. (52)

## 1.3.3 Drei-Kompartimentmodell

Allen Drei-Kompartimentmodellen ist gemeinsam, dass sie jeweils in ein zentrales sowie zwei periphere Kompartimente aufgeteilt sind, wobei das zentrale Kompartiment je einmal im langsamen und einmal im schnellen Austausch mit den beiden peripheren Kompartimenten steht. Ein Bikarbonat-Zufluss kann nur ins zentrale Kompartiment erfolgen, über das entweder eine Abgabe über die Lunge oder in eines der beiden peripheren Kompartimente erfolgt.

Im Drei-Kompartimentmodell von Steele, R et al. wurde das zentrale Bikarbonatkompartiment dem zirkulierenden Blut, das periphere Kompartiment mit dem schnellen Turnover Weichteilgewebe und das periphere Kompartiment mit dem langsamen Turnover dem soliden Bikarbonat im Knochen zugeschrieben (45, 50). Während Shipley, RA et al. extrazelluläres und intrazelluläres Bikarbonat für den zentralen und den schnellen peripheren Pool unterscheiden und den langsamen peripheren Pool als eine Kombination aus solidem Bikarbonat im Knochen und organischem Kohlenstoff gebunden in Substanzen wie Oxalacetat oder Malat ansehen (45, 51).

Irving, CS et al. zeigten, dass die beiden peripheren Pools sich vor allem in der Perfusion unterscheiden und entsprechend über unterschiedliche lange Halbwertszeiten verfügen (45).

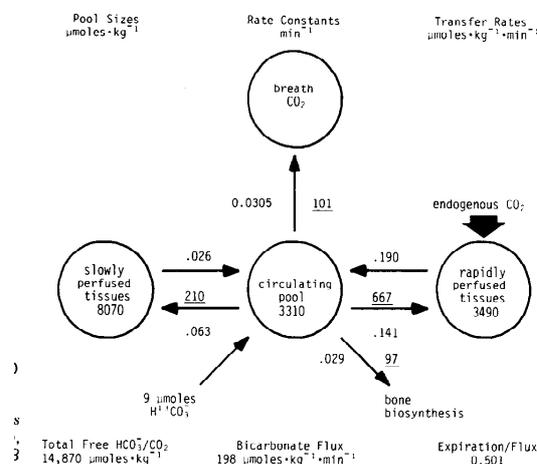


FIG. 6. Bicarbonate compartmental model derived from averaged DOB decay curve. See Fig. 1 for definition of kinetic parameters.

Abbildung 3: Schematische Darstellung des Drei-Kompartimentmodells aus Irving, CS et al. „*[13C]bicarbonate kinetics in humans: intra- vs. interindividual variations*“ *Am J Physiol* (45)

Nach Saccomani, MP, et al. (49) und Irving, CS et al. (45) ist das zentrale Kompartiment ebenfalls Ausgangspunkt für die nicht-respiratorischen Verluste, zum Beispiel durch den metabolischen Einbau von Bikarbonat/Kohlenstoffdioxid in den Knochen oder als

Carboxylgruppe in Substanzen wie beispielsweise Oxalacetat. Ein direkter Verlust des Bikarbonats über den Urin scheint nicht zu erfolgen, allerdings erfolgt ein indirekter Verlust über den Urin durch den Einbau von Bikarbonat in Harnstoffmoleküle (54).

Irving, CD et al. schätzte in seiner Arbeit die Bikarbonataufnahme in den Knochen auf 13% nach vier Stunden (43, 45). Kornberg, HL. et al. zeigten bei der Katze, dass 6% des verabreichten Bikarbonats nach fünf Stunden im Knochen zu finden war und 3% in Harnstoffmolekülen (43, 48). Dies bedeutet, dass das markierte  $^{13}\text{CO}_2$  aufgrund der nicht-respiratorischen Verluste nicht vollständig regeneriert und abgeatmet wird und somit im Rahmen von nicht-invasiven Atemtests als entstehendes  $^{13}\text{CO}_2/^{13}\text{C}$ -Bikarbonat messbar ist. In der Literatur schwankt der Anteil des regenerierten und somit messbaren Anteils zwischen 50 und 90% (45, 53, 55).

## 2. Fragestellung

Wie in der Einleitung dargestellt, gibt es vielfältige Einsatzbereiche von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, auch in der Routinediagnostik von Lebererkrankungen gewinnen sie für spezifische Fragestellungen, vor allem im Rahmen der präoperativen Leberresektionsplanung (56), zunehmend an Bedeutung. Sowohl Holzhuetter, HG, et al. (42) als auch Lock, JF, et al. (26) konnten zeigen, dass die Plasmakinetik von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin nicht mit der Abatmungskinetik von  $^{13}\text{CO}_2$  übereinstimmt. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass das produzierte  $^{13}\text{CO}_2$  primär nicht vollständig abgeatmet, sondern in Form von  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat in einem Bikarbonatkompartiment im Körper zwischengespeichert und erst im Verlauf durch oxidative Decarboxylierung wieder freigesetzt und abgeatmet wird (42). Daraufhin wurde von Holzhuetter, HG, et al. (42) Computermodellbasiert die sog. 2DOB-Methode als Ergänzung zum konventionellen Atemtest vorgeschlagen, mit dem Ziel, die individuelle  $\text{CO}_2$ /Bikarbonat Stoffwechselkapazität in den Test mit einzubeziehen und so die diagnostische Genauigkeit von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zu verbessern. Bisher wurden diese Überlegungen jedoch nur in Simulationen *in silico* validiert. Die nicht exklusive  $^{13}\text{CO}_2$ -Elimination über die Atemluft und die vielfältigen Funktionen des Transportmetaboliten Bikarbonat im menschlichen Stoffwechsel lassen bislang nur ungenaue Rückschlüsse auf die tatsächliche Stoffwechselaktivität entsprechender  $^{13}\text{C}$ -markierter Substanzen zu (26). Dies wirft die Frage auf, ob das mit dem Substrat verabreichte  $^{13}\text{CO}_2$  im Gesamten wieder abgeatmet wird. Nur so kann man rechtfertigen, dass die  $^{13}\text{CO}_2$ -Atemtests auch einen spezifischen Zusammenhang mit der Leberfunktion aufweisen (55, 57).

Aus diesen Überlegungen ergeben sich verschiedene Fragestellungen hinsichtlich des Einflusses des Bikarbonatstoffwechsels auf  $^{13}\text{C}$ -Atemtests im Rahmen der Leberfunktionsdiagnostik, die als Teilbereich in der nachfolgend beschriebenen Studie weitergehend untersucht wurden.

Aus diesem Grund werden im Rahmen dieser Promotion die erhobenen Studiendaten sowohl von lebererkrankten Patienten als auch gesunden Probanden im Speziellen auf folgende Fragestellungen hin untersucht:

1. Kann ein Unterschied in der Abatmung von  $^{13}\text{C}$ -Stoffwechselprodukten, hier am Beispiel von  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat und  $^{13}\text{C}$ -Methacetin, zwischen lebererkrankten Patienten und einer lebergesunden Vergleichsgruppe festgestellt werden?
  - a. Wie stellt sich der Verlauf der  $^{13}\text{CO}_2$ -Abatmung nach  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonatapplikation dar?

- b. Unterscheidet sich der Verlauf zwischen lebererkrankten Patienten und der lebergesunden Vergleichsgruppe?
2. Welche Einflussfaktoren auf die Abatmung von  $^{13}\text{C}$ -Stoffwechselprodukten, insbesondere  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat, können im Vergleich von lebererkrankten Patienten und gesunden Probanden festgestellt werden?
  - a. Korreliert die Abatmung mit der Leberfunktion? Kann dies mit Hilfe von verschiedenen Parametern (Blutwerte, dynamische Leberfunktionstests) dargestellt werden?
3. Hat der Bikarbonatstoffwechsel/die Bikarbonatabatmung einen entscheidenden Einfluss auf die Abatmung von  $^{13}\text{C}$ -Metaboliten und beeinflusst somit den Verlauf und das Ergebnis von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, hier am Beispiel des LiMAX-Tests?

Barstow, T.J. et al. (43) konnten in ihrer Studie darüber hinaus zeigen, dass sich die  $\text{CO}_2$ -Abatmung nach Gabe von  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat in Abhängigkeit von der metabolischen Aktivität verändert, Roecker, K. et al. (55) wiederum konnten zeigen, dass die  $\text{CO}_2$ -Abatmung je nach  $\text{VO}_2$  verändert ist.

Da, wie bereits oben beschrieben, der Einfluss der Lungenfunktion auf das Ergebnis von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests bisher in keiner Studie untersucht wurde, und chronische Lungenerkrankungen, vor allem COPD, in der Gesellschaft weit verbreitete Erkrankungen darstellen, sollen die Studiendaten im Rahmen dieser Dissertation des Weiteren auch auf den Einfluss der Lungenfunktion, insbesondere der Lungenvolumina, auf die  $\text{CO}_2$ -Abatmung im Rahmen der Bikarbonatkinetik sowie des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests und auf das Ergebnis des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests LiMAX untersucht werden.

4. Beeinflusst die Lungenfunktion, insbesondere die Lungenvolumina, die  $\text{CO}_2$ -Abatmung im Rahmen der Bikarbonatkinetik sowie des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests und so das Ergebnis des  $^{13}\text{C}$ -Atemtest LiMAX?

### 3. Methodik

#### 3.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

Ab dem 1. Mai 2016 wurden ambulante und stationäre Patienten aus der chirurgischen und der gastroenterologischen Klinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow Klinikum für diese prospektive Fall-Kontroll-Studie rekrutiert.

Für diese Promotion wurden Studienteilnehmer berücksichtigt, die bis zum 31.01.2018 eingeschlossen wurden. Nach diesem Datum eingeschlossene Patienten erhielten keine Bikarbonatmessung mehr, sodass sie für diese Promotion nicht berücksichtigt werden.

Eine Nachbeobachtung der Studienteilnehmer erfolgte nicht.

##### 3.1.1 Ethikkommission

Die durchgeführte Studie an lebererkrankten Patienten, die ambulant oder stationär in der chirurgischen und gastroenterologischen Klinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden, sowie an lebergesunden Probanden wurde von der lokalen Ethikkommission genehmigt.

Jeder Studienteilnehmer wurde ausführlich mündlich über Sinn und Zweck der Studie sowie die Durchführung der verschiedenen Untersuchungen inklusive deren potentiellen Risiken und Nebenwirkungen verwendeter Medikamente aufgeklärt. Alle erhielten die Studieninformationen mit oben genannten Informationen zusätzlich in schriftlicher Form. Nach ausreichender Bedenkzeit wurde von allen in der Studie untersuchten Patienten und Probanden die schriftliche Einwilligung eingeholt.

Es bestand zu jeder Zeit die Möglichkeit, die Einwilligung zurückzuziehen, die noch ausstehenden Studienuntersuchungen abzulehnen und die Studie somit zu beenden.

##### 3.1.2 Einschlusskriterien

In diese Studie wurden männliche und weibliche lebererkrankte Patienten eingeschlossen, die sich entweder für eine leberchirurgische Operation oder eine Evaluation zur Lebertransplantation am Virchow-Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin vorstellten. Die Patienten wurden im Vorfeld der für sie geplanten Routine-LiMAX-Untersuchung auf die Studie

angesprochen. Bei potentiellm Interesse wurden die Ausschlusskriterien abgefragt. Erfüllten die Patienten keine Ausschlusskriterien und waren mit einer Studienteilnahme einverstanden, wurden sie in die Studie eingeschlossen.

Als Vergleichsgruppe wurden männliche und weibliche lebergesunde Personen ohne Anamnese einer Lebererkrankung für die Studie rekrutiert. Mit Hilfe verschiedener Laborparameter wurden die gesunden Probanden auf potentielle Anzeichen einer Leberschädigung untersucht.

Das Mindestalter für den Einschluss betrug 18 Jahre, eine obere Altersgrenze gab es nicht.

Die Studienteilnehmer mussten schriftlich ihr Einverständnis erklärt haben.

#### 3.1.3 Ausschlusskriterien

Von der Studienteilnahme ausgeschlossen waren folgende Personen/Patientengruppen:

- Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung
- lebertransplantierte Patienten
- Patienten nach TIPS Anlage
- Patienten mit florider Infektion und Fieber  $> 38,0^{\circ}\text{C}$
- Patienten mit Paracetamol Allergie
- Patienten mit MRT Kontraindikationen (z.B. Herzschrittmacher)
- Patienten, die die Studienteilnahme ablehnten

Im Rahmen der Rekrutierung der gesunden Probanden waren bekannte bzw. diagnostizierte Lebererkrankungen, auch benigner Art, ein zusätzliches Ausschlusskriterium. Andere, über die bereits oben angeführten Ausschlusskriterien hinausgehende Vorerkrankungen waren kein Ausschlusskriterium.

#### 3.2 Durchführung der Studienmessungen

Im Rahmen der Studie wurden verschiedene Untersuchungen durchgeführt. Diese beinhalteten: eine Blutentnahme vor jedem Leberfunktionstest, ein LiMAX-Test nach Standardprotokoll, ein LiMAX-Test mit für die Studie adaptiertem Protokoll an einem beliebigen späteren Tag, eine Lungenfunktionsuntersuchung, eine Ultraschall-Elastographie sowie Gewebeuntersuchungen an intraoperativ gewonnenem Lebergewebe, falls eine leberchirurgische Operation vorgesehen war.

Aus klinisch-organisatorischen Gründen konnten nicht alle oben genannten Untersuchungen bei jedem Studienteilnehmer durchgeführt werden, sodass die Patienten in primär zwei Gruppen einzuteilen waren. Eine Gruppe erhielt zusätzlich zum routinemäßig durchgeführten LiMAx-Test einen weiteren LiMAx-Test mit vorheriger Bikarbonatgabe sowie, wenn möglich, eine Lungenfunktionsuntersuchung. Die andere Gruppe erhielt den zweiten LiMAx-Test nicht, bei ihr wurde stattdessen intraoperatives Gewebe entnommen oder nur eine Ultraschall-Elastographie durchgeführt.

Die lebergesunden Personen bilden eine dritte Gruppe. Sie erhielten beide Varianten des LiMAx-Tests sowie eine Lungenfunktionsuntersuchung.

Alle erhielten eine Ultraschallelastographie-Untersuchung. Die Auswertung dieser sowie der Gewebeanalysen sind Bestandteil einer anderen Fragestellung und sollen hier nur der Vollständigkeit halber angesprochen werden. Für die im folgenden aufgeführten Analysen wurden nur Studienteilnehmer berücksichtigt, die beide LiMAx-Messungen erhalten haben.

### 3.2.1 Laborwerte

Die Blutentnahme erfolgte über einen zu Beginn des Leberfunktionstests gelegten Zugang (18G, 20G) nach mindestens drei Stunden Nahrungskarenz.

Den Patienten wurde je ein Heparin-, ein EDTA-, ein Citrat- und ein Serumröhrchen entnommen, bei den lebergesunden Probanden wurde auf das Serumröhrchen verzichtet. Es wurden folgende Laborparameter bestimmt:

1. Heparin-Röhrchen: Allgemeine klinische Chemie (Na, K, Leberenzyme, Blutlipide, Albumin, Protein)
2. EDTA-Röhrchen: kleines Blutbild
3. Citrat-Röhrchen: Gerinnung (Quick, INR, aPTT)
4. Serum-Röhrchen: Tumormarker (AFP, CEA, Ca 19-9)

Die Blutuntersuchung sollte insbesondere der Bestimmung der aktuellen Leberenzyme und des MELD-Scores (Model for endstage liver disease) dienen, um diese als Vergleichswert für den dynamischen Leberfunktionstest im Anschluss heranziehen zu können.

Als laborchemische Leberparameter wurden folgende biochemische Marker verwendet:

Die Transaminasen Aspartat-Aminotransferase (AST) bzw. Glutamyl-Oxalacetat-Transaminase (GOT) und Alanin-Aminotransferase (ALT) bzw. Glutamyl-Pyruvat-Transaminase (GPT) wurden als Indikatoren einer Leberzellschädigung abgenommen und ausgewertet (58).

Als Parameter für die Syntheseleistung der Leber wurden die Pseudo-Cholinesterase (PCHE) sowie der Quick-Wert bzw. INR als Maß für die Synthese von Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren in der Leber bestimmt.

Als Parameter für die Entgiftungs- und Ausscheidungsfunktion der Leber wurde Bilirubin ausgewertet (58).

Da viele Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen (CRLM), hepatozellulärem Karzinom (HCC) sowie extra- und intrahepatischen Gallengangstumoren (CCC, Klatskin-Tumoren) voraussichtlich in die Studie eingeschlossen werden würden, wurde entschieden, die bei diesen Tumorerkrankungen typischerweise erhöhten Tumormarker AFP, CEA, Ca 19-9 ebenfalls als Baselinecharakteristika mitzubestimmen. Bei den gesunden Probanden wurde aus ethischen und medizinischen Gründen auf eine Bestimmung der Tumormarker verzichtet.

#### 3.2.2 Bestimmung der Leberfunktion mittels LiMAx-Test

Im Rahmen dieser Studie wurde bei jedem Patienten und jedem Probanden mindestens ein LiMAx-Test nach im Folgenden beschriebenen Standardprotokoll durchgeführt.

Eine Untergruppe der Patienten sowie alle gesunden Probanden erhielten zusätzlich zu einem späteren Zeitpunkt einen LiMAx-Test, dessen Protokoll für Studienzwecke erweitert wurde. Dieser LiMAx-Test wird im Folgenden als Bikarbonat-LiMAx-Test bezeichnet.

##### 3.2.2.1 Durchführung in der Studie

Bedingung für die Durchführung des LiMAx-Tests war jeweils eine mindestens dreistündige Nahrungs-, Flüssigkeits- und möglichst Nikotinkarenz, wobei stilles Leitungswasser ausgenommen war (59). Aus diesem Grund wurden die LiMAx-Tests, wenn möglich, morgens oder am späten Nachmittag – unter Einhaltung der Nahrungskarenz – nach dem Mittagessen durchgeführt.

Die Durchführung des Tests erfolgte stets in Rückenlage, um eine körperliche Anstrengung oder hektische Atembewegungen zu vermeiden, die eine Verfälschung der Atemkurve bedingen könnten.

Nach Aufklärung und Befragung der Patienten wurde zunächst ein peripherer Venenzugang (18G, 20G) - möglichst körpernah - gelegt. Dieser diente sowohl für die Blutentnahmen vor dem Test als auch für die Injektion der Testsubstanzen.

In der folgenden Tabelle 2 werden alle benötigten Testutensilien aufgelistet.

**Tabelle 2: Testutensilien für den LiMAX-Test und den Bikarbonat-LiMAX-Test**

	Standard-LiMAX-Test	Bikarbonat-LiMAX-Test
<b><sup>13</sup>C-Methacetin (Glasflasche, 50ml, Hersteller: Charité Apotheke)</b>	1x	1x
<b><sup>13</sup>C-Bikarbonat (Glasflasche, 50ml, Hersteller: Charité Apotheke)</b>		1x
<b>50ml NaCl (0,9%)</b>	1x	2x
<b>Perfusorspritze 50ml</b>	1x	1x
<b>20ml Spritze</b>	1x	3x
<b>10ml Spritze</b>	2x	3x
<b>Kodan-Spike</b>	2x	3x
<b>3-Wegehahn-Verlängerung</b>	1x	2x

Zur Vorbereitung der Messung wurden alle benötigten Testutensilien bereitgelegt und anschließend alle benötigten Patientendaten in das Programm des Messgerätes eingegeben: Patientennamen, Studiennummer, Geburtsdatum, Geschlecht, Größe, Gewicht.

Die <sup>13</sup>C-Methacetinlösung wurde auf die 50ml Perfusorspritze aufgezogen.

Körpergewichtsadaptiert wurde eine Menge von 2mg/kg, dies entspricht 0,5ml/kg, benötigt, die nicht benötigte Flüssigkeit wurde verworfen. Zusätzlich wurde eine 20ml Spritze mit NaCl (0,9%) befüllt. Beide Spritzen wurden anschließend an der vorher mit NaCl (0,9%) durchgespülten 3-Wegehahn-Verlängerung befestigt.

Um den Test zu beginnen, wurde dem Studienteilnehmer die Atemmaske möglichst dicht anliegend über Mund und Nase aufgesetzt, um ein Entweichen der Expirationsluft zu

vermeiden. Die Maske wurde über einen Plastikschauch mit dem Messgerät verbunden, sodass die Expirationsluft direkt in das Messgerät geleitet werden konnte.

Nach Eingabe des Codes der verwendeten Maske konnte die Messung gestartet werden. Nach Starten des Messgerätes erfolgte für 10 Minuten die Bestimmung einer Baseline. Dabei wurde das individuelle Verhältnis von  $^{12}\text{CO}_2$  und  $^{13}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft des Patienten bzw. Probanden bestimmt, um später die durch  $^{13}\text{C}$ -Methacetin ausgelöste Erhöhung des  $^{13}\text{CO}_2$  berechnen zu können (35).

Nachdem eine stabile Baseline ohne ausgeprägte Schwankungen über 10 Minuten aufgezeichnet werden konnte, wurde die 3-Wegehahn-Verlängerung mit den beiden Spritzen am Venenzugang befestigt. Es erfolgte möglichst schnell die Injektion der körperrgewichtsadaptierten  $^{13}\text{C}$ -Methacetindosis, anschließend wurde mit 20ml NaCl (0,9%) nachgespült, um eine möglichst schnelle Verteilung im zentralen Kompartiment zu ermöglichen (34).

Bei den lebergesunden Probanden erfolgte nun die Aufzeichnung der  $^{13}\text{CO}_2$ -Kurve über mindestens 30 Minuten, bei den lebererkrankten Patienten wurde über mindestens 45 Minuten gemessen. Nach 60 Minuten Messzeit wurde die Messung vom Gerät automatisch beendet, da eine Erhöhung der  $^{13}\text{CO}_2$ -Kurve nicht mehr zu erwarten war (39). Die Messung erfolgte kontinuierlich durch das Gerät, wobei alle 25s ein über diesen Zeitraum gemittelter Messwert auf dem Display des Gerätes angezeigt wurde. Ein Befund und somit ein Ergebnis konnte sofort erstellt und ausgedruckt werden.

Nach Messende wurden die Masken verworfen, da eine erneute Verwendung des Maskencodes nicht möglich war.

### 3.2.3 Bikarbonatmessungen

Zusätzlich zum LiMAX-Test, der mit dem Standard-Protokoll durchgeführt wurde und als Vergleichspunkt dienen sollte, erfolgte im Rahmen dieser Studie ein Bikarbonat-LiMAX-Test, bei dem vor  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Gabe eine definierte Menge  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat appliziert wurde. Die  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat-Lösung wurde speziell für diesen Zweck von der Charité internen Krankenhausapotheke unter sterilen Bedingungen hergestellt. Dabei entsprach die in einer 50ml-Glasflasche enthaltene Menge an  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat der in einer 50ml-Glasflasche enthaltenen Menge an  $^{13}\text{C}$ -Methacetin, die für den Standard-LiMAX-Test verwendet wird.

### 3.2.3.1 Durchführung

Im Rahmen dieser Studie wurde bei einem Teil der rekrutierten Patienten und allen gesunden Probanden der Vergleichsgruppe ein LiMAx-Test mit adaptiertem Studienprotokoll durchgeführt. Die Veränderung bestand in der Injektion von  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat, um den Effekt auf den Verlauf und das Ergebnis des LiMAx-Tests zu untersuchen, sodass ein zweiphasiger Testverlauf entstand (42).

Im Rahmen des Studienprotokolls wurde der Bikarbonat-LiMAx-Test im späteren Verlauf nach dem Standard-LiMAx-Test durchgeführt, sodass den Patienten der ungefähre Ablauf des Tests bereits geläufig war.

Nach erfolgter Aufklärung über die Veränderungen des Testablaufs wurde den Studienteilnehmern ein neuer peripher-venöser Zugang (18G, 20G) gelegt. Es erfolgte die erneute Abnahme der oben aufgeführten Laborparameter.

Die Messvorbereitungen erfolgten analog zum Standard-Protokoll, die benötigten Testutensilien sind in Tabelle 2 beschrieben. Für den Bikarbonat-Test wurden zwei 20ml Spritzen mit NaCl 0,9%, eine 50ml Spritze mit  $^{13}\text{C}$ -Methacetin analog zum Standard-Protokoll sowie eine 20ml Spritze für das  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat vorbereitet. Das  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat wurde dabei folgendermaßen dosiert: bei 2mg/ml wurden 0,2ml/kg Körpergewicht verwendet, dies entspricht einer Menge an  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat von 20% im Vergleich zur verwendeten Menge an  $^{13}\text{C}$ -Methacetin.

Es wurde immer eine 20ml Spritze vollständig aufgezogen, der nicht benötigte Rest anschließend aus der Spritze verworfen.

Es wurden zwei Dreiwege-Hahn-Verlängerungen mit NaCl 0,9% angespült und anschließend mit je einer 20ml NaCl 0,9% Spritze sowie entweder dem  $^{13}\text{C}$ -Methacetin oder dem  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat verbunden.

Nach Beendigung der Vorbereitungen wurde analog zum Standard-Protokoll der Test mit einer 10-minütigen Messung der Basalwerte von  $^{13}\text{CO}_2$ : $^{12}\text{CO}_2$  begonnen.

Anschließend erfolgte die Injektion der körperlsgewichts-adaptierten Menge des  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonats im Bolus und das Spülen des Zugangs mit Kochsalzlösung. Die Messung erfolgte daraufhin für 30 Minuten. Im Anschluss wurde die körperlsgewichtsadaptierte Menge  $^{13}\text{C}$ -Methacetin über den Zugang im Bolus injiziert und mit 20ml NaCl 0,9% gespült. Der Test verlief nun analog zum oben beschriebenen Standard-Protokoll.

### 3.2.3.2 Grafische Darstellung und Auswertung der Messdaten

Die Messung erfolgte wie auch beim Standard-LiMAX-Test mit dem FLIP2®-Messgerät (Fast liver investigation package®; Humedics GmbH, Berlin, Germany). Auch während der 30-minütigen Messung des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses nach  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat-Injektion erfolgte eine kontinuierliche Erfassung alle 25sec, wobei jeder Messpunkt als DOB in Abhängigkeit von der Zeit in Minuten dargestellt wurde.

Eine Darstellung der Messkurve innerhalb der ersten 30 Minuten auf dem Display des Messgerätes war nach Beendigung der Messung nicht möglich, sodass die Messkurve mit Hilfe von Microsoft Excel Version 16.13.1 dargestellt wurde. Dadurch war eine Analyse der Messdaten möglich.

Die abschließenden Analysen wurden mit Hilfe von Clampfit (pCLAMP™ 10.2 Software Suite) und Matlab (R2017b, 9.3.0.713579, © 1984-2017 The MathWorks, Inc. Protected by U.S. and international patents) durchgeführt, dabei wurden sowohl die DOB-Werte als auch die Kurvencharakteristika analysiert.

Mit dem Programm Clampfit erfolgte eine Analyse des Verlaufs und des Abfalls der DOB-Kurve nach Erreichen des Bikarbonat-Peaks bis zum Zeitpunkt der Methacetin-Injektion. Dafür wurde eine mathematische Fit-Funktion erstellt.

Mit dem Programm Matlab erfolgte anschließend die Berechnung von Area-under-the-Curve (AUC)-Werten für verschiedene Abschnitte der Bikarbonat-DOB-Kurve.

### 3.2.3.3 Berechnung des Bikarbonat-LiMAX in Matlab und Excel

Im folgenden Abschnitt soll die Durchführung der Berechnungen in Matlab zum Bikarbonat-LiMAX und den genutzten Kinetikparametern erläutert werden.

Zur Berechnung erfolgte zuerst die Darstellung der gewonnenen Messwerte sowohl der  $\text{CO}_2$  Abatmung nach Bikarbonatgabe über 30 Minuten als auch der  $\text{CO}_2$  Abatmung nach Methacetin-Gabe über mindestens 30 und maximal 60 Minuten in Matlab in einer Auflösung von 25sec pro Messwert.

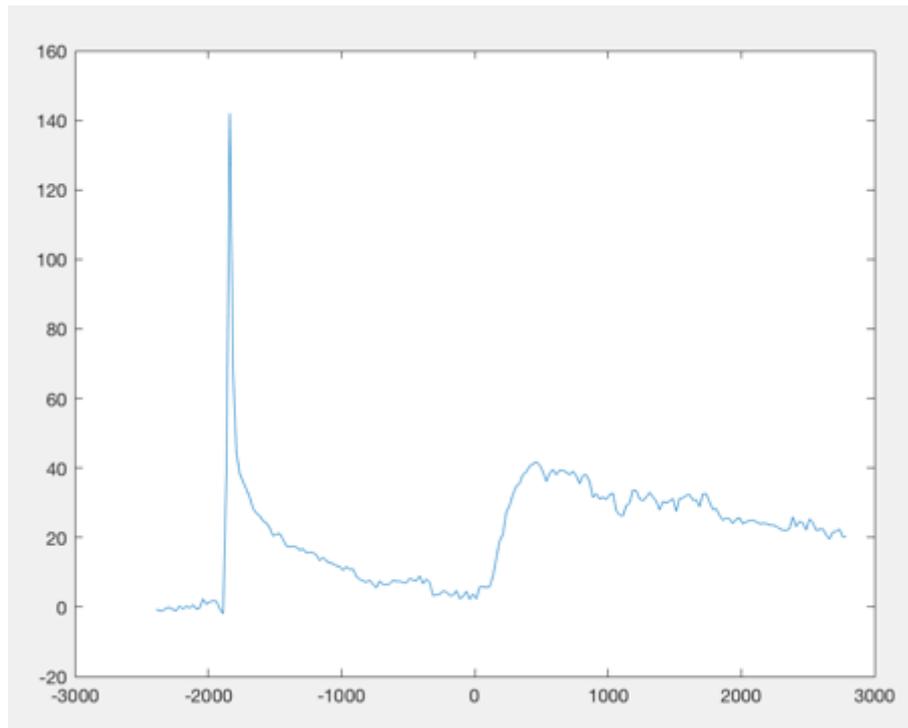


Abbildung 4: Grafische Darstellung der Bikarbonatabatmungskurve und der Methacetinabatmungskurve in Matlab (Beispielproband, y-Achse DOB, x-Achse Zeit in sec)

Anschließend wurden verschiedene Parameter aus den Kurven berechnet: Erstellung eines exponentiellen Fits zur Berechnung der AUC-Werte sowie des angepassten Bikarbonat-LiMAX-Wertes.

Die Berechnung der AUC-Werte als Maß für die Bikarbonat-Ausatemkinetik erfolgte mit Hilfe des fitting Tools in Matlab, das einen exponentiellen Fit mit folgender Formel  $y = a * \exp(b * x)$  basierend auf den Messdaten der letzten 15 Minuten der langsamen Bikarbonatabatmung, angepasst nach Roecker, K et al. (55), erstellte. Anschließend erfolgte die grafische Darstellung der gefitteten Kurve von -2500sec bis 2500sec.

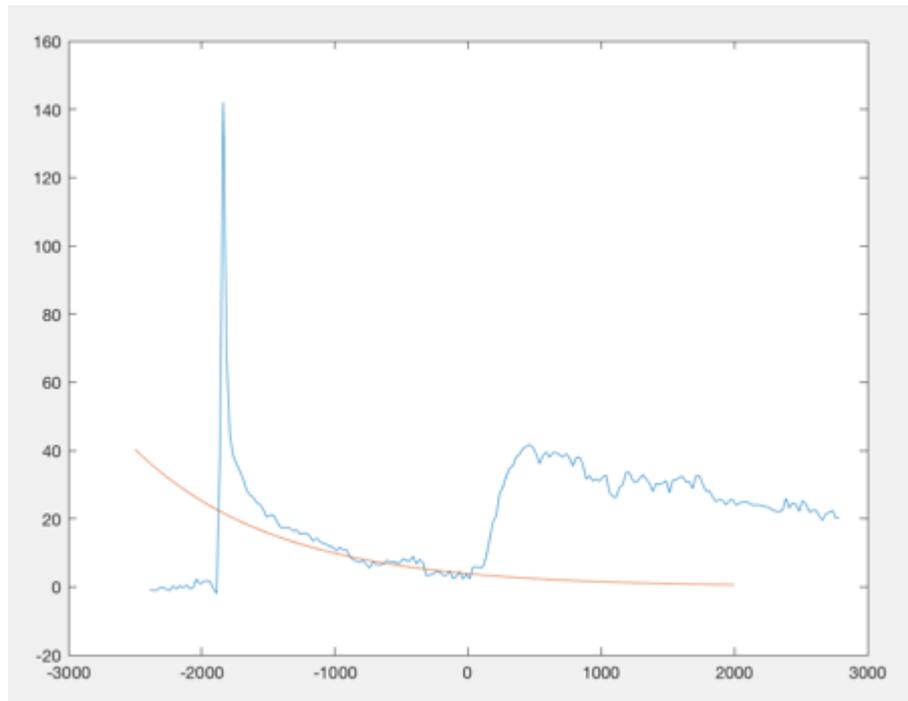


Abbildung 5: Grafische Darstellung der gefitteten Kurve bezogen auf die Abatmungskurve von  $^{13}\text{CO}_2$  (Beispielproband, y-Achse DOB, x-Achse Zeit in sec)

Anschließend wurden die Schnittpunkte zwischen der Abatmungskurve und der Kurve des exponentiellen Fits grafisch dargestellt, sodass die Fläche unter der Abatmungskurve durch die Schnittpunkte an beiden Seiten und durch die Kurve des exponentiellen Fits nach unten hin begrenzt wurde. Diese Fläche stellt die Kinetik des Peaks dar. Darüber hinaus wurde die Fläche vom Beginn der  $\text{CO}_2$  Abatmung nach Bikarbonat-Gabe bis zum Beginn der Methacetin Gabe als Fläche unter der gesamten Abatmungskurve berechnet. Diese Fläche wird nach unten hin durch die ursprüngliche Baseline begrenzt.

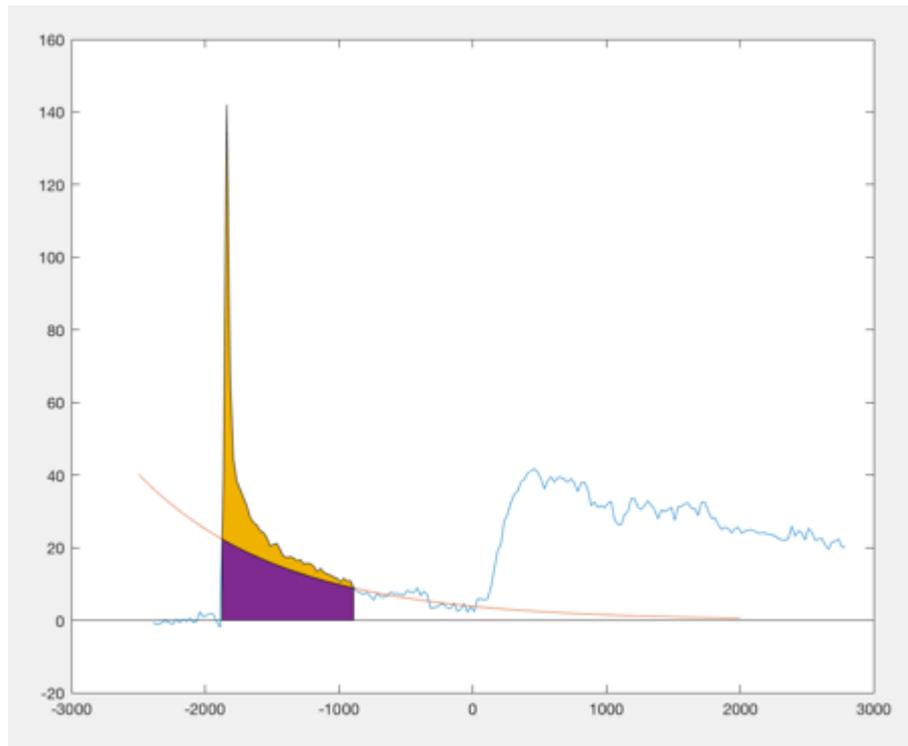


Abbildung 6: Grafische Darstellung der berechneten AUC-Flächen unter der Bikarbonatabatmungskurve, in Gelb wird hier die Fläche unter dem Peak dargestellt (Beispielproband, y-Achse DOB, x-Achse Zeit in sec)

Die Berechnung des neuen Bikarbonat-LiMAx-Wertes wurde wie folgt durchgeführt: Es wurde erneut der exponentielle Fit verwendet. Die Abatmungskurve und Fitkurve des jeweiligen Studienteilnehmers wurden in einer gemeinsamen Grafik in Matlab dargestellt. Mit Hilfe der Messkurvdaten in Excel wurde der DOBmax-Wert als Mittelwert der höchsten vom FLIP® aufgezeichneten DOB-Werte bestimmt. Nun erfolgte die grafische Bestimmung des y-Wertes des Exponentiellen Fits für den Messzeitpunkt (x in sec) DOBmax. Die Differenz zwischen dem vom Messgerät aufgezeichneten und aus Excel bestimmten DOBmax und dem mit Hilfe des exponentiellen Fits bestimmten y-Wertes, der analog der von Holzhütter, HG et al. (42) vorgeschlagenen „2-DOB-Methode“ den eigentlichen Baseline-Wert nach Abatmung von Bikarbonat darstellt, stellt nun den korrigierten DOBmax-korrigiert dar, der für die Berechnung des Bikarbonat-LiMAx-Wertes verwendet wurde.

### 3.2.4 Lungenfunktionsdiagnostik

Da es sich bei den hier eingesetzten  $^{13}\text{C}$ -Testverfahren um Atemtests handelt, sollte als weiterer Aspekt in dieser Studie der Einfluss der Lungenfunktion auf das Testergebnis sowie auf die Abatmungskinetik des  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonats, dabei insbesondere auf den ersten Abatmungspike, untersucht werden.

In der Literatur gibt es bis zum jetzigen Zeitpunkt keine Untersuchungen, die den LiMAX-Test explizit im Zusammenhang mit der Lungenfunktion betrachten.

Im Rahmen des LiMAX-Tests wird das  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis zu Beginn des Tests für jeden Patienten individuell bestimmt, um einen Ausgangswert festzusetzen, von dem aus im Anschluss an die Injektion der Testsubstanz der Anstieg des  $^{13}\text{CO}_2$  gemessen werden kann.

Für  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat konnte aber gezeigt werden, dass es einen, je nach Grad der körperlichen Aktivität während der Messung, unterschiedlich großen First-Pass-Effekt durch die Lunge bei der Abatmung gibt, der nicht wie der restliche Teil der Abatmungskurve mit einem zwei-exponentiellen Fit in Einklang gebracht werden konnte und somit von der übrigen Abatmungskinetik abweicht (55).

#### 3.2.4.1 Durchführung

Die Lungenfunktionsmessungen, eine Ganzkörperbodyplethysmographie sowie eine CO-Diffusionsmessung, wurden von den MTAs der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und Pneumologie (einschl. Arbeitsbereich ambulante Pneumologie) am Campus Virchow Klinikum der Charité durchgeführt.

Alle Patienten, die für eine LTX-Evaluation stationär aufgenommen wurden, erhielten im Rahmen ihrer Evaluationsuntersuchungen auch eine Lungenfunktionsuntersuchung. Bei den gesunden Vergleichspersonen sowie den Patienten, die aus anderen Gründen stationär aufgenommen wurden und bei denen sich eine Lungenfunktionsuntersuchung organisieren ließ, erfolgten die Messungen immer vor Beginn der Sprechstunde in der Ambulanz.

#### 3.2.4.2 Grundlagen der Lungenfunktionsdiagnostik

Die Bodyplethysmographie wird zur Diagnostik von restriktiven und obstruktiven Ventilationsstörungen eingesetzt. Das Krankheitsbild Ventilationsstörung beschreibt eine

Störung des Atemflusses, dabei ist entweder die Fähigkeit gestört, die Atemluft in die Atemwege hinein oder aus ihnen hinaus zu transportieren (58).

Während bei restriktiven Ventilationsstörungen die Ausdehnungsfähigkeit des Systems Lunge-Thorax-Zwerchfell (Compliance) vermindert und so die mobilisierbaren und nicht-mobilisierbaren Lungenvolumina reduziert sind, ist bei obstruktiven Ventilationsstörungen eine Verengung oder Verlegung der Atemwege Ursache für eine Störung des Atemflusses. Da obstruktive Ventilationsstörungen im Laufe der Zeit zu einer Lungenüberblähung und früh zu einer CO<sub>2</sub>-Retention führen, lag unser Augenmerk vor allem auf den für diese Diagnose entscheidenden Parametern (58). Die wichtigsten Messgrößen sind insbesondere die Einsekundenkapazität (FEV<sub>1</sub>), die forcierte Vitalkapazität (FVC), der Peak-Flow (peak expiratory flow) sowie der maximale expiratorische Fluss bei 50% bzw. 25% der Vitalkapazität (MEF 50/25). Aus FEV<sub>1</sub> und FVC wird darüber hinaus der für die Diagnostik wichtige sog. Tiffenau-Index (FEV<sub>1</sub>/FVC) gebildet, welcher den Anteil der Vitalkapazität repräsentiert, der innerhalb einer Sekunde maximal forciert ausgeatmet werden kann. Als normwertig wird ein Wert über 80% betrachtet (60).

Im Gegensatz zur einfachen Spirometrie können mit Hilfe der Ganzkörperplethysmographie auch das intrathorakale Gasvolumen, die totale Lungenkapazität, das Residualvolumen und der Atemwegswiderstand bestimmt werden, welche weitere Hinweise auf Ventilationsstörungen, eine Lungenüberblähung oder Abatmungsbehinderungen geben können. Im Rahmen einer Lungenüberblähung, wie sie zum Beispiel bei der chronisch-obstruktiven Lungenerkrankung COPD bzw. bei dem sich im Verlauf dieser Erkrankung ausbildenden Emphysem vorliegt, steigt vor allem das Residualvolumen (RV) an, während die Vitalkapazität (VC) absinkt (60, 61).

Für die Ganzkörperplethysmographie sitzt die Testperson in einer druckdichten Glaskabine, in der die durch die Bewegung von Raumluft erzeugten Druckschwankungen registriert werden können. Der Patient muss dafür ein kurzes, gut abgedichtetes Mundstück und eine Nasenklammer aufsetzen, um eine vollständige Messung der bewegten Luft und erzeugten Druckunterschiede zu ermöglichen. Undichtigkeiten am Mundstück führen dementsprechend zu Fehlmessungen. Der Patient atmet während der Messung außerhalb der verschlossenen Kammer befindliche Luft ein. Durch die dadurch erzeugte Zunahme des Lungenvolumens kommt es zu einer Kompression der Kammerluft. Dies erhöht entsprechend den Druck in der Kammer, wobei sich die Druckerhöhung wiederum in einer Druckabnahme in der Lunge widerspiegelt. Die Druckdifferenz zwischen Lunge und dem Raum außerhalb der Kammer kann indirekt bestimmt und in einem Diagramm gegeneinander aufgetragen werden. In diesem Diagramm

werden zusätzlich die am Mundstück gemessenen Volumenstromstärken ( $V/t$ ) aufgezeigt. (62-64).

Zusätzlich wurde darüber hinaus eine Messung der Diffusionskapazität durchgeführt, die Aufschluss über die Güte des Sauerstoff-Austauschs und die pro Zeiteinheit und Partialdruckdifferenz von der Lunge ins Blut diffundierende Gasmenge gibt. So können sowohl Vergrößerungen der Diffusionsstrecke als auch eine Reduktion der Diffusionsfläche festgestellt werden. Dazu wird der CO-Transferfaktor (TLCO) bestimmt. Der Patient atmet mit einem tiefen Atemzug ein Testgasgemisch (0,2% CO, 8-10% He, Restluft) ein und wird anschließend dazu aufgefordert für 8-10sec die Luft anzuhalten. Währenddessen verteilt sich das eingeatmete Gasgemisch in der Lunge des Patienten, nur CO diffundiert zum Teil ins Blut, sodass bei der darauffolgenden Expiration vergleichsweise weniger CO als He in der alveolären Gasfraktion detektiert und ein Rückschluss auf die diffundierte Menge gezogen werden kann (62).

### 3.3 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm SPSS Version 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Im Folgenden werden die Daten als Median  $\pm$  Interquartilsabstand (IQR) angegeben, wenn keine anderen Angaben gemacht werden.

Für die Unterschiede zwischen den untersuchten Populationen (Patienten/Probanden, Gruppenvergleich nach Leberfunktion) wurden der Mann-Whitney-U-Test für 2 Gruppen und der Kruskal-Wallis-Test für 3 oder mehr Gruppen verwendet.

Für Unterschiede zwischen kategorialen Variablen wurde der exakte Fisher-Test bzw. der Chi<sup>2</sup>-Test verwendet.

Für Unterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten wurde der Wilcoxon-Vorzeichenrangtest verwendet.

Korrelationen zwischen den einzelnen Parametern wurden mit Hilfe der Spearman-Korrelationsanalyse bestimmt.

In multiple Regressionsanalysen wurden aufgrund der Anzahl der eingeschlossenen Studienteilnehmer in der kleineren Gruppe, den Probanden, maximal 3 Faktoren einbezogen.

Als statistisch signifikant wurde ein Wert von  $p < 0,05$  angesehen.

Es folgte ausschließlich exploratives Testen, die p-Werte wurden nicht an multiples Testen adjustiert.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Patientenkollektiv

Für die folgende statistische Auswertung der Studiendaten wurden alle Studienteilnehmer berücksichtigt, die bis zum 31.01.2018 eingeschlossen wurden und die sowohl einen LiMAX-Test nach Standardprotokoll als auch einen LiMAX-Test nach dem Bikarbonat Studienprotokoll erhalten haben. Patienten, die nach Durchführung der LiMAX Untersuchung eine Weiterführung der Studie und somit einen LiMAX-Test nach dem Bikarbonat Studienprotokoll ablehnten, wurden nicht berücksichtigt. Daten von eingeschlossenen Patienten oder Probanden, die ausschließlich für das Sampling von Gewebeproben oder die Durchführung einer Ultraschallelastographie eingeschlossen wurden, wurden in den folgenden Analysen ebenfalls nicht für die statistische Auswertung berücksichtigt.

In der folgenden Abbildung ist die Zusammensetzung des Studienkollektivs sowie des ausgewerteten Patientenkollektivs dargestellt. Insgesamt wurden 129 Studienteilnehmer (24 Probanden und 105 Patienten) bis zum 31.01.2018 eingeschlossen. In die statistische Auswertung werden im Folgenden 26 Patienten sowie 21 Probanden eingeschlossen.

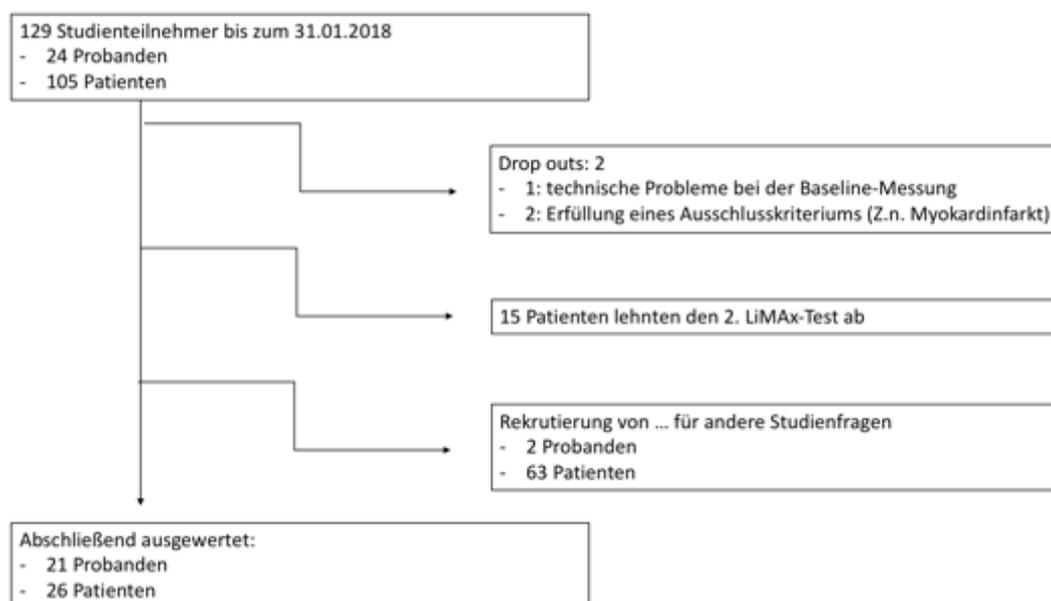


Abbildung 7: Studienpopulation vom 1.05.2016-31.01.2018

Von den rekrutierten Probanden musste einer als Drop-out gewertet werden, da bei einer LiMAX-Messung technische Probleme bei der Baseline-Messung aufgetreten waren. Ein Patient erfüllte ein Ausschlusskriterium für die Studienteilnahme.

Bis zum 31.01.2018 wurden darüber hinaus 2 Probanden und 63 Patienten für andere Studienfragen rekrutiert, diese erhielten weder einen LiMAX-Test noch einen Bikarbonat-Test nach oben beschriebenen Schema und wurden für die folgenden Analysen aus diesem Grund nicht berücksichtigt.

In der folgenden Abbildung werden die Lebererkrankungen der in die Analysen eingeschlossenen Patienten denen, der nicht berücksichtigten, für andere Studienfragen rekrutierten Patienten gegenübergestellt.

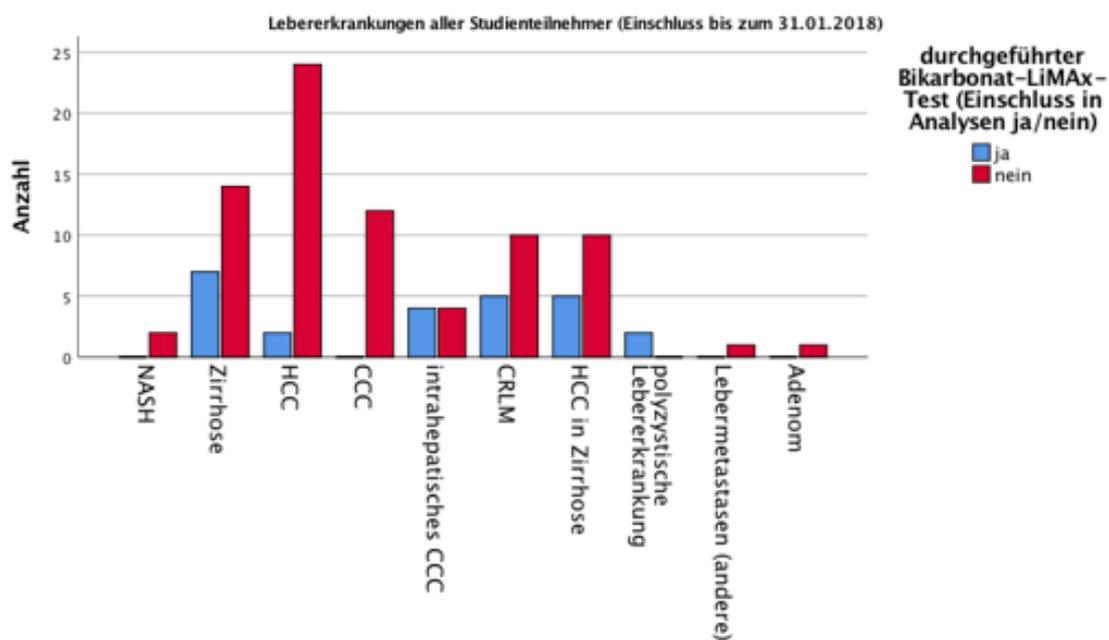


Abbildung 8: Lebererkrankungen der Patienten, im Vergleich für die Analysen berücksichtigte Patienten MIT Bikarbonat-LiMAX und Patienten OHNE Bikarbonat-LiMAX (gruppiertes Balkendiagramm)

#### 4.2 Allgemeine und leberspezifische Patientencharakteristika

Von den 26 eingeschlossenen Patienten war bei 12 eine Leberzirrhose entweder histologisch nach Leberpunktion oder durch Erfüllung von mindestens 2 der folgenden Kriterien - unregelmäßige Begrenzung der Leber in CT/MRT, Milzgröße >12cm, Fibroscan >17,6kPa,

Varizen, Thrombozyten <129/nl, Aszites, hepatische Enzephalopathie nach Westhaven – diagnostiziert worden. 5 dieser 12 Patienten hatten bereits ein Hepatozelluläres Karzinom (HCC) entwickelt und wurden im Rahmen der Studien im Folgenden als HCC in Zirrhose ausgewertet. Darüber hinaus wurden 2 Patienten mit einem HCC ohne zugrundeliegende Zirrhose, 4 Patienten mit einem intrahepatischen cholangiozellulären Karzinom, 5 Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen, 2 Patienten mit einer autosomal dominanten polyzystischen Nierenerkrankung mit Beteiligung der Leber (Potter 3) sowie 1 Patient mit Morbus Wilson ohne eingetretene Zirrhose und 1 Patientin mit Morbus Wilson mit bereits ausgeprägter Leberzirrhose eingeschlossen. Die Patientin mit Morbus Wilson und bereits eingetretener Leberzirrhose wird im Folgenden den Patienten mit Zirrhose zugeordnet und somit unter den 12 Patienten mit Zirrhose klassifiziert.

Laborchemisch zeigte sich eine signifikant unterschiedliche Leberfunktion zwischen den gesunden Probanden und den eingeschlossenen Patienten. Die LiMAx-Werte waren jedoch in unserer Studienpopulation nicht signifikant unterschiedlich (424µg/kg/h (381-510µg/kg/h) vs. 364,5 µg/kg/h (164,3-472,3 µg/kg/h),  $p = 0,069$ ).

Die allgemeinen sowie die leberspezifischen Patientencharakteristika werden in der folgenden Tabelle dargestellt.

**Tabelle 3: Patientencharakteristika (angegeben als Median ± Interquartilsabstand)**

	Probanden		Patienten		p-Wert
<b>Anzahl</b>	21		26		
<b>Geschlecht (weiblich/männlich)</b>	7	14	8	18	1,0 <sup>1</sup>
<b>Alter bei Einschluss</b>	40	(29,5-54,5)	57,5	(49,75-66)	0,001*
<b>Raucher (ja/nein)</b>	2	19	8	18	0,002 <sup>2</sup>
<b>BMI (Messung1)</b>	25,14	(22,3-26,5)	26,1	(22,3-30,3)	0,158
<b>LiMAx-Wert in µg/kg/h</b>	424	(381-510)	364,5	(164,3-472,3)	0,069
<b>Bikarbonat-LiMAx in µg/kg/h</b>	471,3	(404,6-528,5)	336,2	(178,1-551,7)	0,038*
<b>DOB gefittet</b>	-2,57	(-3,44- -2,23)	-3,62	(-4,42- -2,76)	0,026*
<b>DOB Bikarbonat LiMAx</b>	31,55	(29,00-37,73)	24,91	(11,60-37,28)	0,049*
<b>MELD Score</b>	6,43	(6,43-6,98)	9,01	(6,79-18,18)	0,002*

<b>Laborwerte</b>					
Thrombozyten (/nl)	233	(206-262)	170	(92-232)	0,005*
Quick (in %)	100	(90,5-111)	88,5	(71,25-103)	0,026*
INR	1,00	(0,94-1,07)	1,08	(0,98-1,24)	0,026*
Natrium (mmol/l)	140	(138,75-141,25)	139,5	(136,3-142)	0,675
Kalium (mmol/l)	4	(3,7-4,15)	4,2	(3,8-4,4)	0,063
Kreatinin (mg/dl)	0,84	(0,76-0,94)	0,8	(0,7-0,98)	0,878
geschätzte GFR (ml/min)	90	(88,25-90)	90	(80-90)	0,203
GOT/AST (U/l)	28	(21,75-30,5)	47	(32,5-82,5)	0*
GPT/ALT (U/l)	21	(17-28)	39	(25-55,5)	0,003*
gamma-GT (U/l)	17	(13-24)	105	(60-161,5)	0*
Alkalische Phosphatase (U/l)	60	(50-65)	92	(75,5-205)	0*
PCHE (kU/l)	8,1	(6,54-9,74)	6,01	(3,40-7,39)	0,007*
Bilirubin (mg/dl)	0,49	(0,31-0,61)	0,66	(0,43-3,48)	0,036*
<b>Leberzirrhose</b>					
>2 Kriterien erfüllt <sup>3</sup>			12		
<2 Kriterien erfüllt			14		
<b>Lebererkrankungen</b>					
Zirrhose			7		
HCC			2		
intrahepatisches CCC			4		
CRLM			5		
HCC in Zirrhose			5		
polyzystische Lebererkrankung			2		
Morbus Wilson			1		

<sup>1</sup> 2-seitige Signifikanz nach dem exakten Fisher-Test

<sup>2</sup> 2-seitige Signifikanz nach dem Chi-Quadrat-Test

<sup>3</sup> mind. 2 der folgenden Kriterien: unregelmäßige Begrenzung der Leber in CT/MRT, Milzgröße >12cm, Fibroscan >17,6kPa, Varizen, Thrombozyten <129/nl, Aszites, hepatische Enzephalopathie nach Westhaven

Im Folgenden sind mehrere Übersichtsgrafiken zur Studienpopulation hinsichtlich LiMAx-Test, Bikarbonat-LiMAx und Leberfunktion dargestellt.

In Abbildung 9 sind die LiMAx- und LiMAx-Werte nach Bikarbonat-Studienprotokoll von Patienten und Probanden im Vergleich dargestellt, wobei sich die LiMAx-Werte nach dem Bikarbonat-Studienprotokoll signifikant unterscheiden ( $471,3 \mu\text{g/kg/h}$  ( $404,6\text{-}528,5 \mu\text{g/kg/h}$ ) vs.  $336,2 \mu\text{g/kg/h}$  ( $178,1\text{-}551,7 \mu\text{g/kg/h}$ ),  $p = 0,038$ ), während sich die LiMAx-Werte in unserer Studienpopulation zwischen Patienten und Probanden nicht signifikant unterscheiden. Hinsichtlich der statischen, laborchemischen Leberfunktionsparameter unterscheiden sich Patienten und Probanden jedoch signifikant. So sind der MELD-Score, die Transaminasen, die Cholestaseparameter gamma-GT und AP, die PCHE, das Bilirubin und die Gerinnungsparameter signifikant unterschiedlich zwischen Patienten und Probanden (S. Tabelle 3).

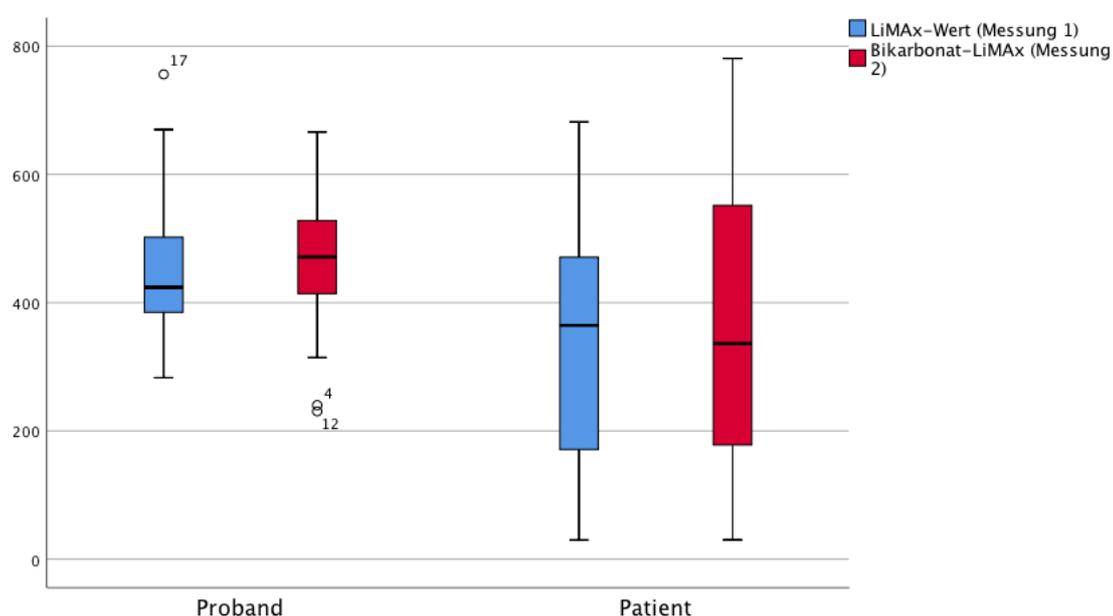


Abbildung 9: Darstellung der LiMAx- und Bikarbonat-LiMAx-Werte von Patienten und Probanden im Vergleich (Boxplot mit Messwerten als Median, die y-Achse stellt die LiMAx-Werte dar)

Abbildung 10 stellt die Verteilung der LiMAx-Werte bezogen auf die zugrundeliegende Lebererkrankung dar. Hierbei wird deutlich, dass die LiMAx-Werte der Patienten mit zugrundeliegender Zirrhose schlechter sind als die Werte der Patienten beispielsweise mit kolorektalen Lebermetastasen.

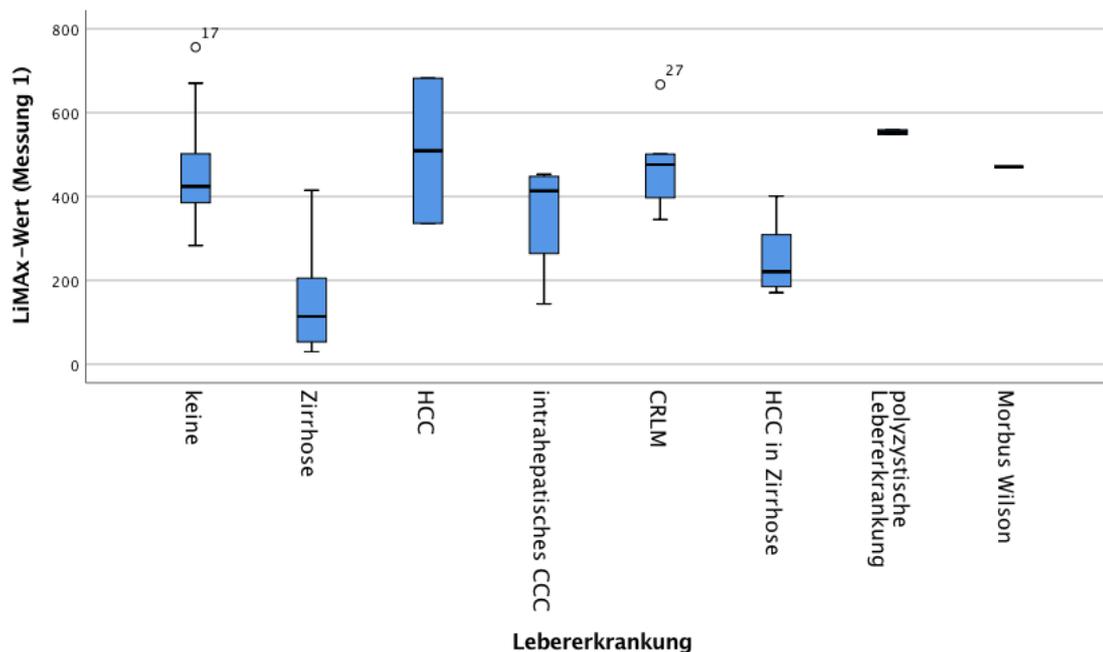


Abbildung 10: Verteilung der LiMAX-Werte bezogen auf die zugrundliegende Lebererkrankung, gesunde Probanden als Gruppe „keine Lebererkrankung“ (Boxplot mit Messwerten als Median)

Die folgende Abbildung 11 zeigt die LiMAX-Werte im Vergleich mit den LiMAX-Werten nach dem Bikarbonat-Studienprotokoll für jeden Studienteilnehmer in einer Übersichtsgrafik.

Dabei zeigt sich eine große Streubreite zwischen den individuellen Messwerten, einige Studienteilnehmer zeigen einen höheren LiMAX-Wert nach dem Standardprotokoll, einige einen höheren Bikarbonat-LiMAX, bei einigen liegen die Werte sehr nah beieinander.

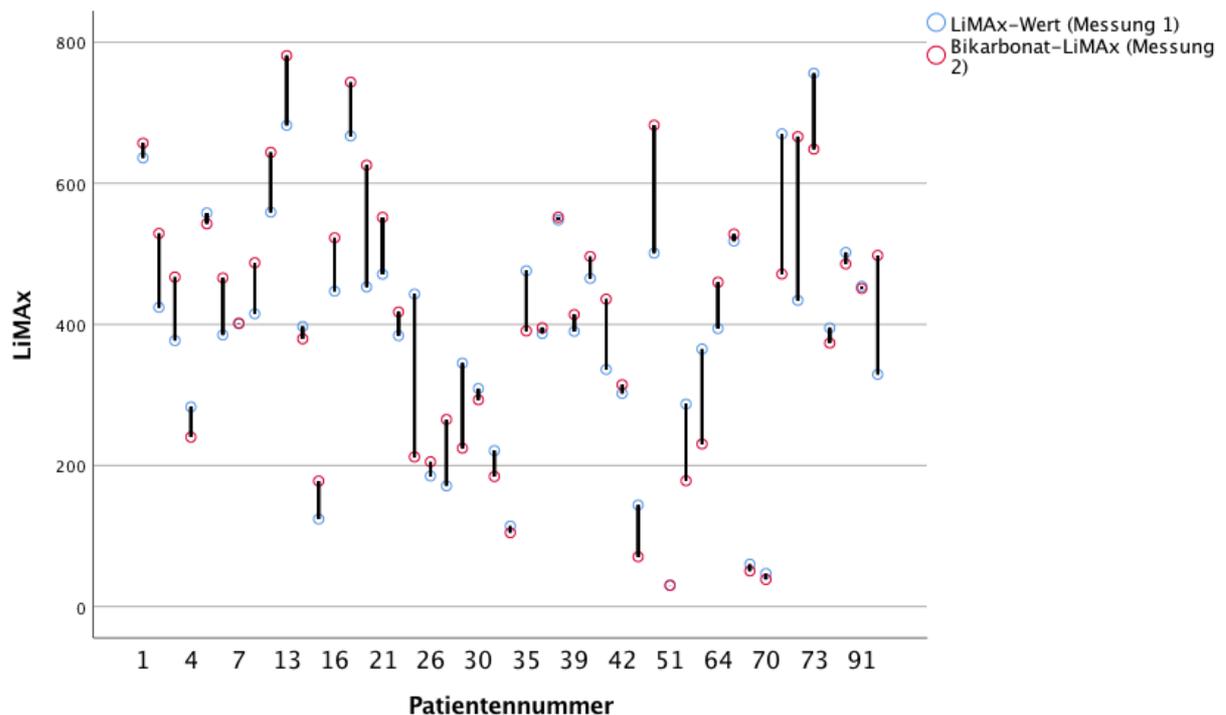


Abbildung 11: Individuelle Darstellung der LiMAX- und Bikarbonat-LiMAX-Werte je Studienteilnehmer als Liniendiagramm

Aufgrund des signifikanten Altersunterschiedes der Studiengruppe „Patient/Proband“, dargestellt in Tabelle 3, stellt Abbildung 12 in einem Boxplot die medianen LiMAX-Werte für die Altersgruppen über 50 Jahre und kleiner/gleich 50 Jahre für die beiden Studiengruppen dar. Der Median des LiMAX-Wertes für die Gruppe über 50 Jahre liegt bei  $394,00 \mu\text{g/kg/h}$  ( $287,0\text{-}465,0 \mu\text{g/kg/h}$ ), für die Gruppe unter/gleich 50 Jahre bei  $409,50 \mu\text{g/kg/h}$  ( $308,75\text{-}536,50 \mu\text{g/kg/h}$ ,  $p = 0,576$ ).

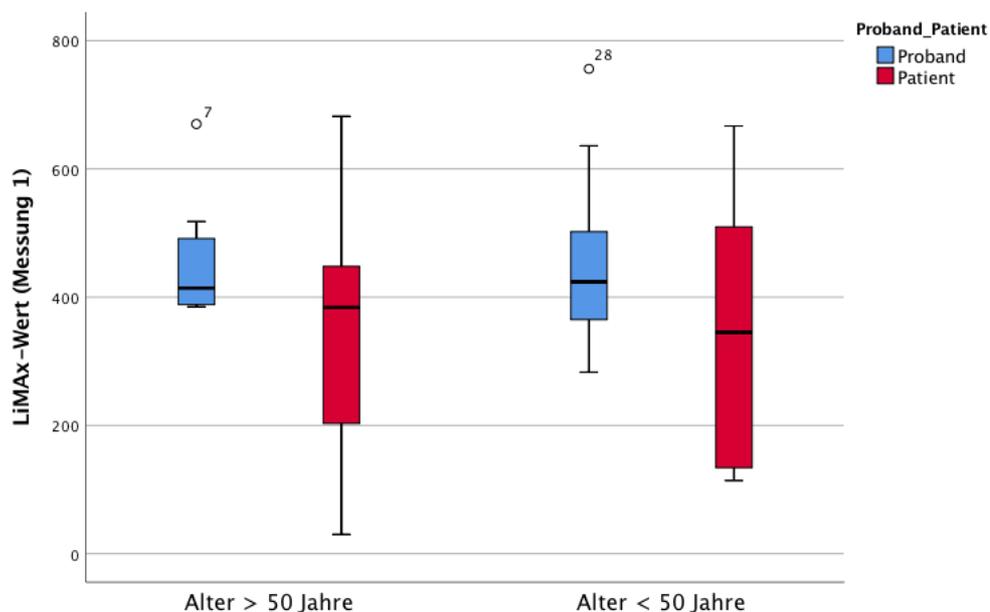


Abbildung 12: LiMAX-Werte für die Gruppen Patient/Proband für die Altersgruppen >50 Jahre und ≤50 Jahre (Boxplot mit den Messwerten als Median)

### 4.3 LiMAX-Test

Jeder Studienteilnehmer erhielt als erste apparative Untersuchung einen LiMAX nach dem Standard-Untersuchungsschema, um einen Ausgangswert für den folgenden LiMAX nach dem Bikarbonat-Studienprotokoll und die anschließende Auswertung der Parameter zu schaffen. In unserer Studie zeigte sich im Median ein LiMAX-Wert von 395,00  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (302-476  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ). Für die Probanden lag der Wert bei 424  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (381-510  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ), für die Patienten bei 364,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (164,3-472,3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,069$ ), wobei der Unterschied zwischen beiden Gruppen sich als nicht signifikant darstellte (Abbildung 9).

#### 4.3.1 LiMAX und leberspezifische Patientencharakteristika

Auch in unserer Studienpopulation konnte eine gute Korrelation des LiMAX-Testes mit dem in der Literatur häufig verwendeten Score „model for endstage liver disease (MELD)“ gezeigt werden.

Der MELD-Score ist ein weltweit anerkanntes Verfahren zur objektiven Priorisierung der Organvergabe im Rahmen von Lebertransplantationen. Es konnte gezeigt werden, dass der Score das kurzfristige Überleben von Zirrhose-Patienten vorhersagen kann (35, 66-68). In den MELD-Score gehen der Kreatinin-Wert in mg/dl, das aktuelle Bilirubin in mg/dl sowie der INR ein. Die Berechnung erfolgt nach der folgenden Formel:

$$10 * (0.957 * LN(Kreatinin) + 0.378 * LN(Bilirubin) + 1.120 * LN(INR) + 0.643).$$

Für die Studienpopulation zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Probanden ( $p = 0,002$ ) sowie eine signifikante Korrelation mit dem LiMAx ( $-0,395$ ,  $p = 0,013$ , Abbildung 13).

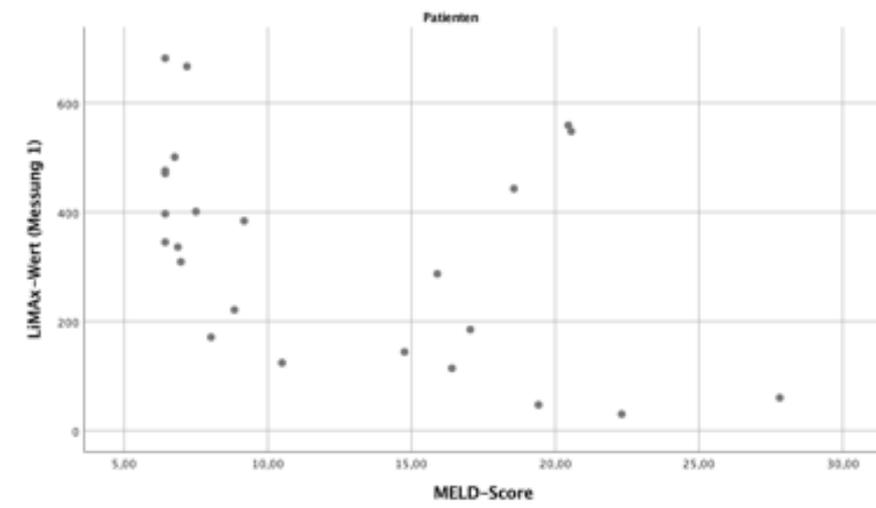


Abbildung 13: Darstellung des LiMAx und des MELD-Scores bei Patienten (Scatterplot)

Auch andere leberspezifische Laborparameter zeigten in unserer Studie eine gute Korrelation zu den gemessenen LiMAx-Werten.

In unserer Studie zeigten sich signifikant unterschiedliche Werte der Transaminasen für Patienten und Probanden (GOT  $p < 0,001$ , GPT  $p = 0,003$ ), der LiMAx-Test zeigte eine gute inverse Korrelation von  $-0,483$  für die GOT ( $p = 0,001$ ) und von  $-0,305$  für die GPT ( $p = 0,050$ ).

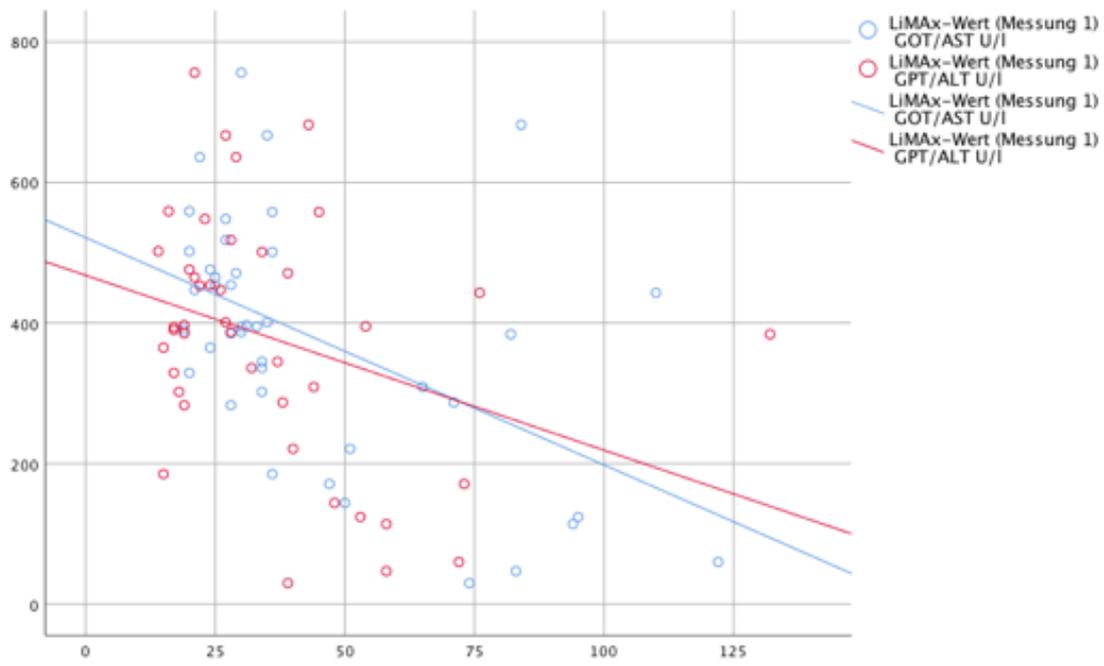


Abbildung 14: Zusammenhang zwischen LiMAX-Wert und GOT bzw. GPT als Scatterplot

Auch die Lebersyntheseparameter PCHE und Quick- bzw. INR Wert zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen unseren Patienten und Probanden. Für die PCHE lag der p-Wert bei 0,007, für Quick bzw. INR bei 0,026.

Beide Parameter zeigten eine gute Korrelation mit dem LiMAX (PCHE: ,448,  $p = 0,008$  bzw. INR: -,345,  $p = 0,027$ ).

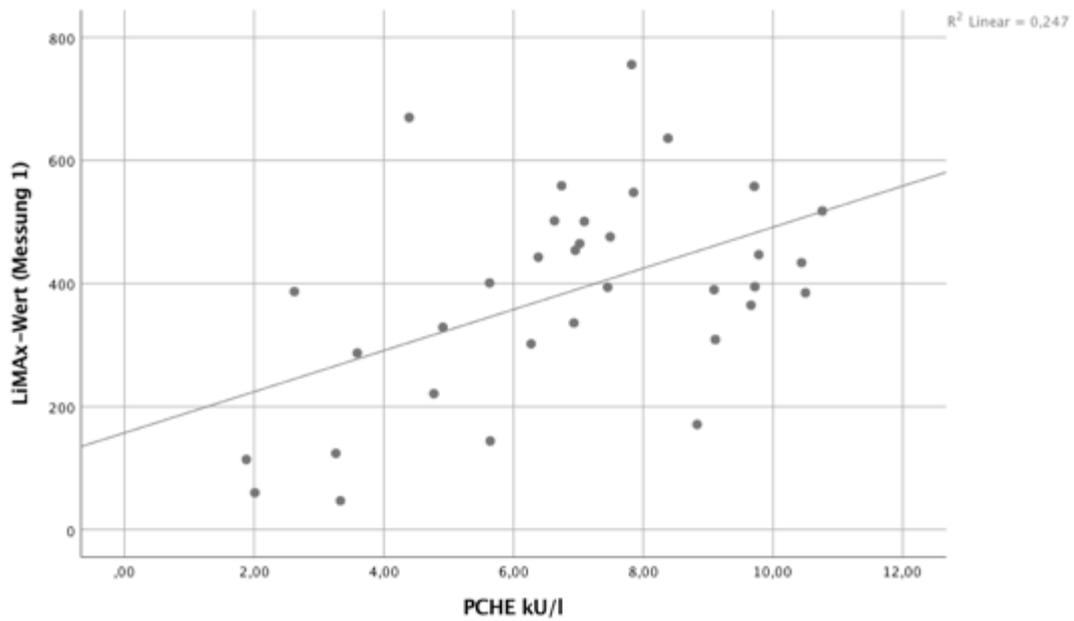


Abbildung 15: LiMAX und PCHE im Scatterplot

Für Bilirubin zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen Patienten und Probanden mit einem p-Wert von 0,036.

Zwischen dem LiMAX-Wert und dem Bilirubin-Wert zeigte sich eine negative Korrelation (-,410) mit einem p-Wert von 0,006. Aus der nachfolgenden Grafik wird jedoch deutlich, dass der Großteil der Patienten ein normwertiges oder niedriges Bilirubin aufwies.

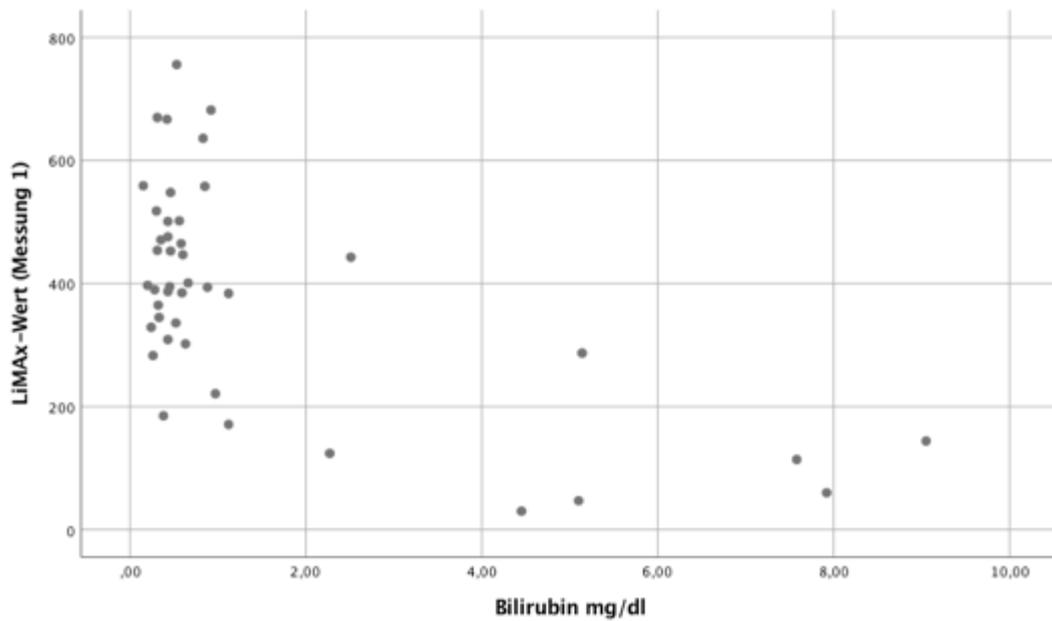


Abbildung 16: LiMAX und Bilirubin im Scatterplot

In der Gruppe der Patienten, die einen LiMAX unter  $150 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  aufwiesen ( $n = 6$ ), lag das Bilirubin im Median jedoch bei  $6,34 \text{ mg}/\text{dl}$  ( $3,91\text{-}8,20$ ). In allen anderen Gruppen zeigte sich ein medianer Wert unter  $1 \text{ mg}/\text{dl}$  ( $p=0,001$ ).

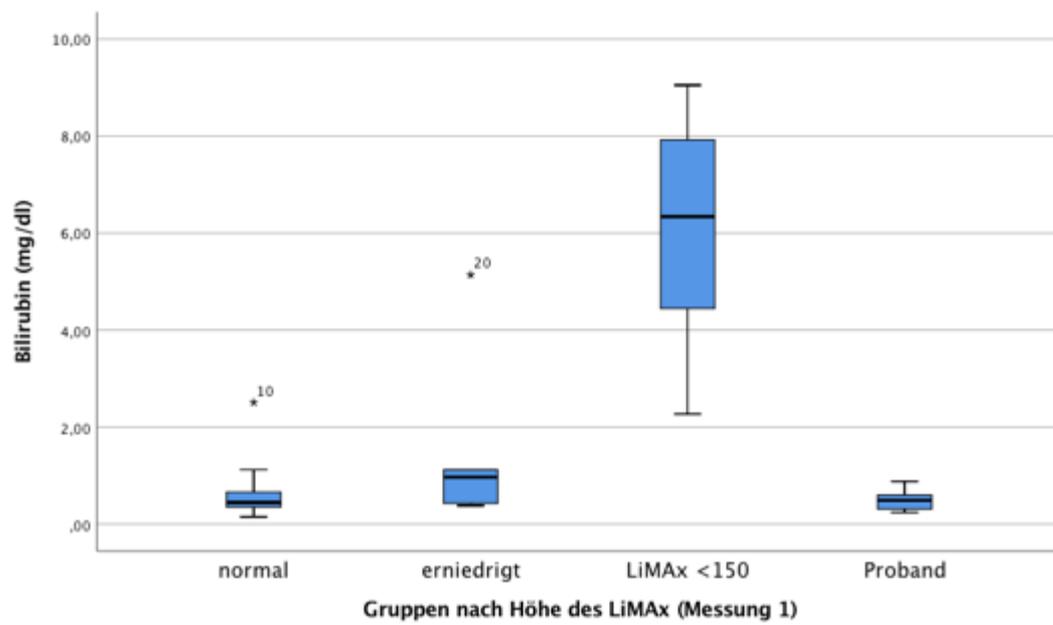


Abbildung 17: Median des Bilirubins bezogen auf die Höhe des LiMAX eingeteilt in die Gruppen: normaler LiMAX, erniedrigter LiMAX zwischen 150 und 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , sehr niedriger LiMAX  $<150 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  und gesunde Probanden (Boxplot)

In der multiplen linearen Regressionsanalyse mit dem LiMAX-Wert als abhängige Zielvariable zeigte sich unter Einbezug der Transaminasen und der PCHE ein signifikantes Modell ( $p = <0,001$ ) mit einem  $R^2$  von 0,515, aber nur die PCHE zeigte einen signifikanten Regressionskoeffizienten.

		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten			Kollinearitätsstatistik	
Modell		Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta	T	Sig.	Toleranz	VIF
1	(Konstante)	345,483	111,441		3,100	,004		
	GOT_AST_U_per_L_Messung1	-,884	1,801	-,149	-,491	,627	,187	5,348
	GPT_ALT_U_per_L_Messung1	-3,031	2,337	-,332	-1,297	,205	,265	3,777
	PCHE_kU_per_L_Messung1	25,476	12,112	,379	2,103	,045	,533	1,876

a. Abhängige Variable: LiMAX-Wert (Messung ohne Bikarbonat-Injektion)

Abbildung 18: Tabelle zur multiplen Regressionsanalyse unter Einbezug der Transaminasen und der PCHE

#### 4.4 LiMAx-Test nach Bikarbonat Studienprotokoll

In den folgenden beiden Grafiken werden zwei Übersichten über die Bikarbonatkurven der Patienten und Probanden vom höchsten DOB-Wert nach Bikarbonatgabe bis zum DOB-Wert bei Beginn der Methacetin-Gabe dargestellt.

In der Abbildung 19 werden die gemittelten Bikarbonatkurven von Patienten und Probanden miteinander verglichen. Dabei wird deutlich, dass sich die gemittelten Bikarbonat-DOB-Werte zwischen Patienten und Probanden nicht signifikant unterscheiden. Der vermutet schnellere bzw. steilere Abfall der gemittelten Probanden-Kurve lässt sich nicht objektivieren. Ein Vergleich der Kurven von Probanden und Patienten mit normalem LiMAx-Wert  $>315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  respektive mit erniedrigtem LiMAx-Wert  $<315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  zeigte ebenfalls keinen Unterschied im Kurvenverlauf.

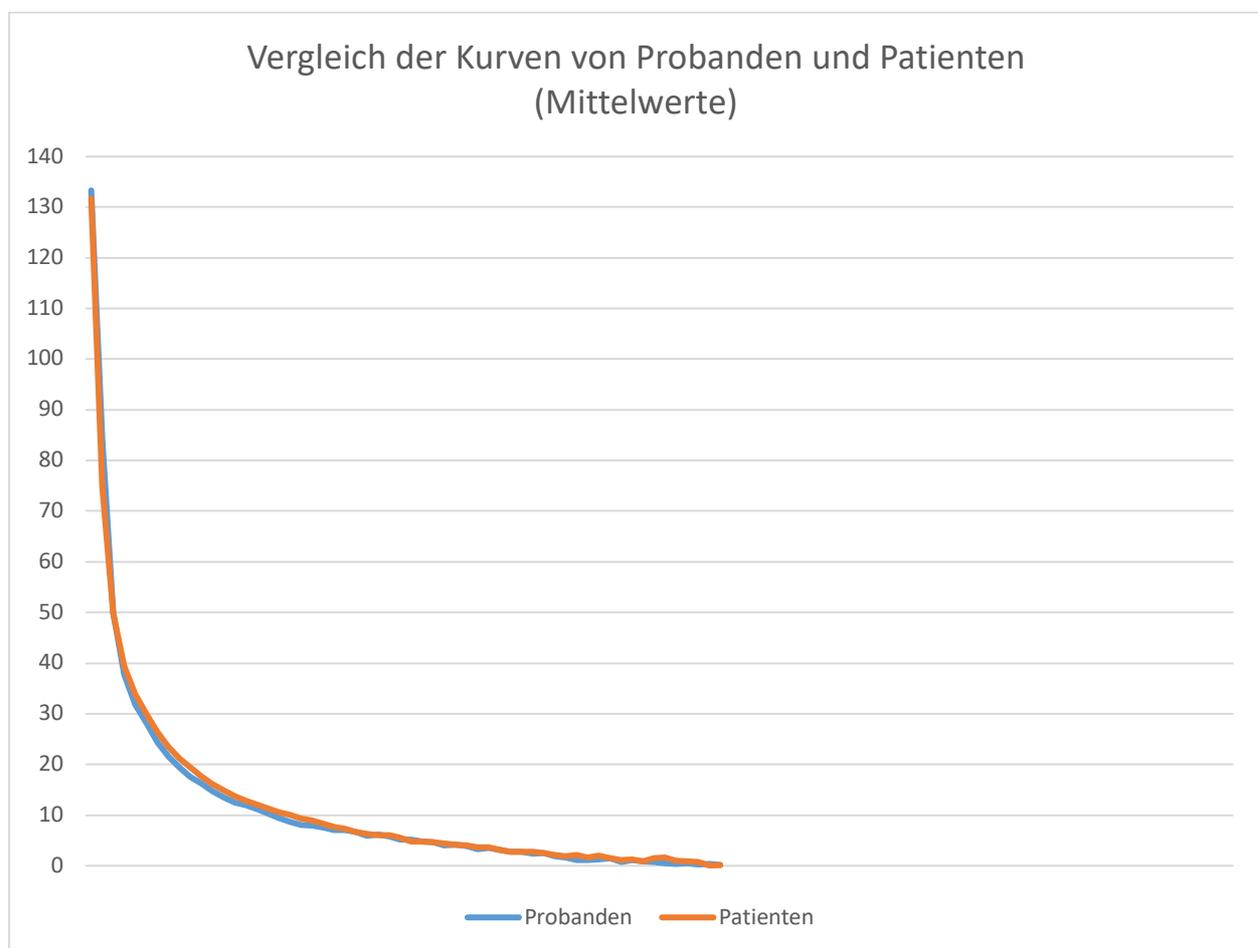


Abbildung 19: Grafische Darstellung der gemittelten Bikarbonatkurven für Patienten und Probanden im Vergleich ( $\text{DOB}_{\text{max}}/\text{Zeit}$  in min)

In der Abbildung 20 werden alle individuellen Bikarbonatkurven im Vergleich dargestellt, wobei deutlich wird, dass der Verlauf für alle Kurven sehr ähnlich ist und sich nur die maximalen DOB-Werte deutlich unterscheiden.

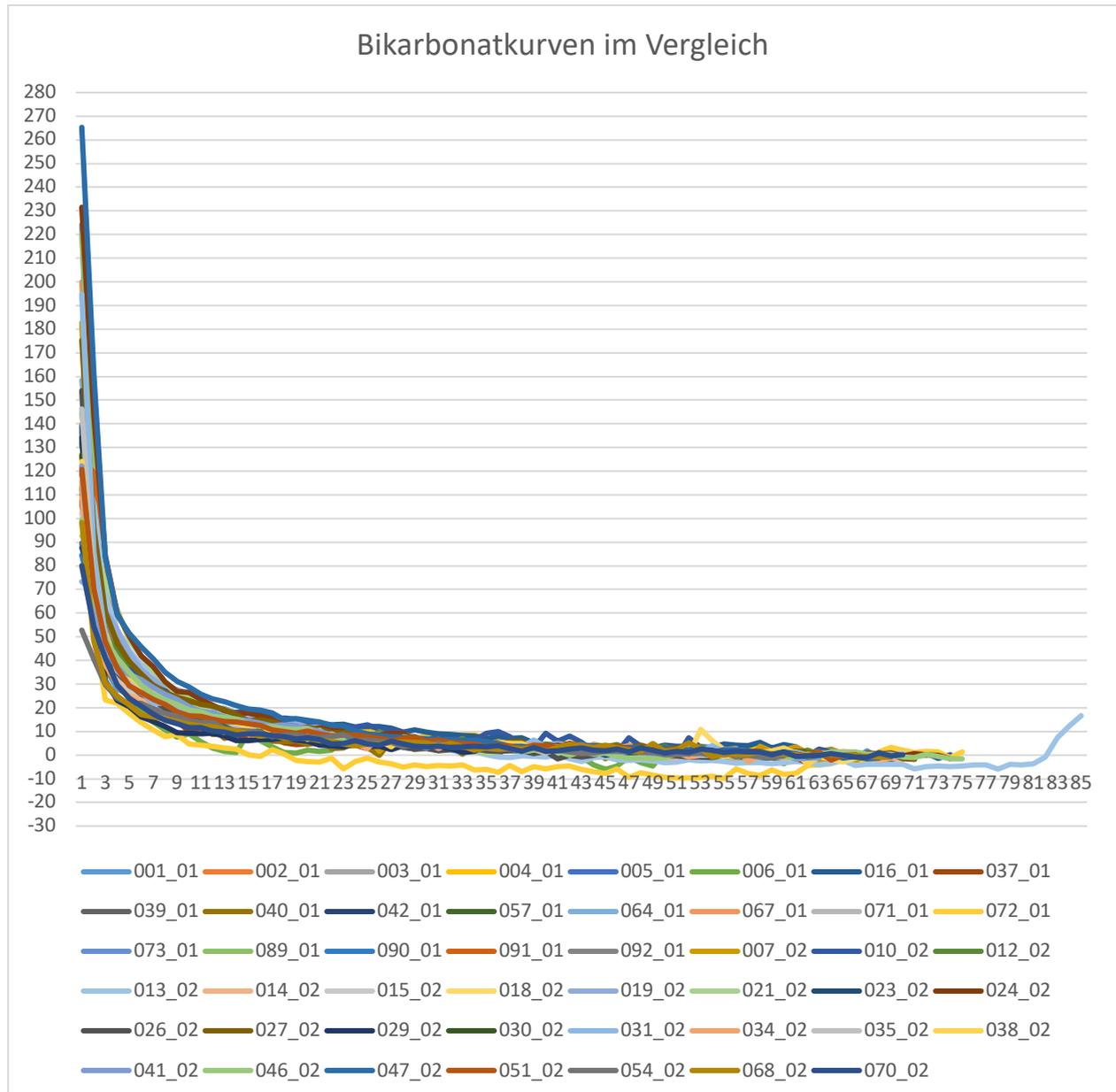


Abbildung 20: Grafische Darstellung der Bikarbonatkurven vom höchsten DOB-Wert nach Bikarbonatgabe bis zum DOB-Wert bei Beginn der Methacetin-Gabe für alle Studienteilnehmer

#### 4.4.1 Vergleich von LiMAX und Bikarbonat-LiMAX

Im folgenden Abschnitt soll untersucht werden, ob die vorherige Bikarbonat-Gabe die Wiederholungsgenauigkeit des LiMAX-Tests beeinflusst und die LiMAX/Bikarbonat-LiMAX-Werte für jeden einzelnen Studienteilnehmer genauer miteinander verglichen werden.

Die durchschnittliche absolute Differenz zwischen den Werten vom LiMAX und dem Bikarbonat-LiMAX beträgt für die gesamte Studienpopulation 65,74  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (16,03-99,78  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,193$ ), für die Gruppe der Probanden 42,81  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (15,92-106,35  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  ( $p = 0,305$ )), für die Patienten 72,86  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (14,44-99,14  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , ( $p = 0,424$ )). Werden die Gruppen Patienten/Probanden hinsichtlich der absoluten Differenz zwischen LiMAX und Bikarbonat-LiMAX verglichen, zeigt sich ein nicht signifikanter p-Wert von 0,649.

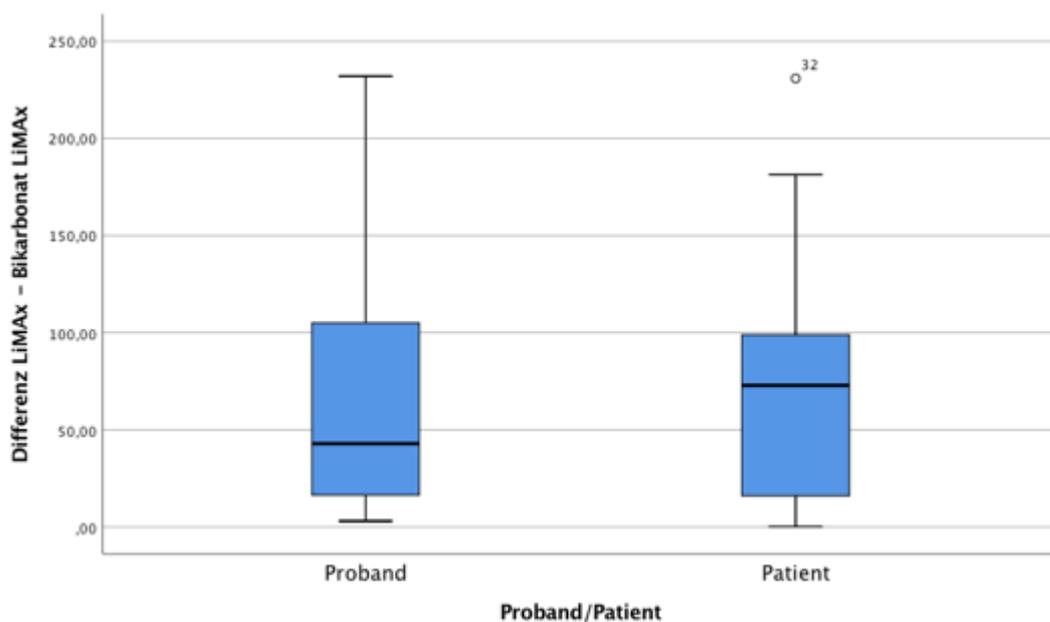


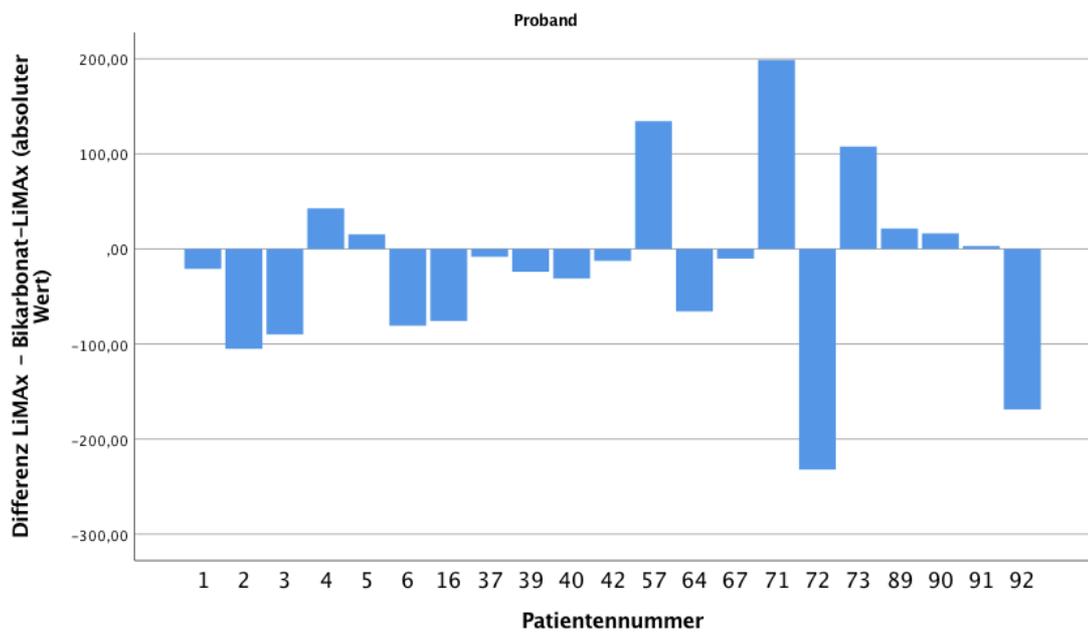
Abbildung 21: Boxplot zur Darstellung der medianen absoluten Differenz zwischen dem LiMAX-Wert und dem Bikarbonat-LiMAX-Wert für Patienten und Probanden

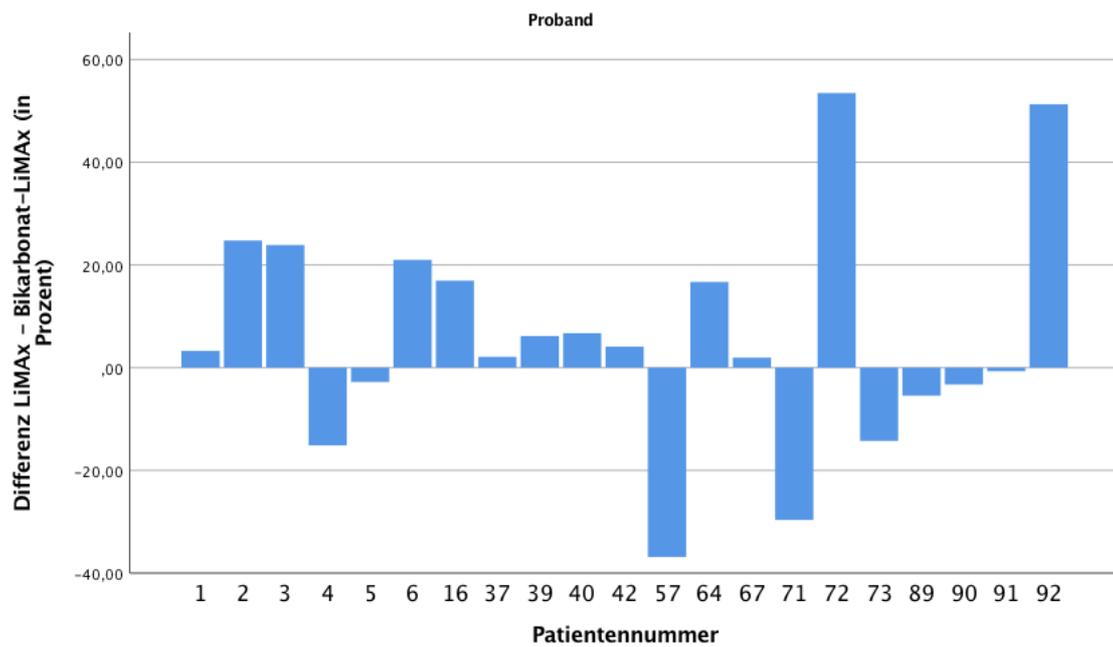
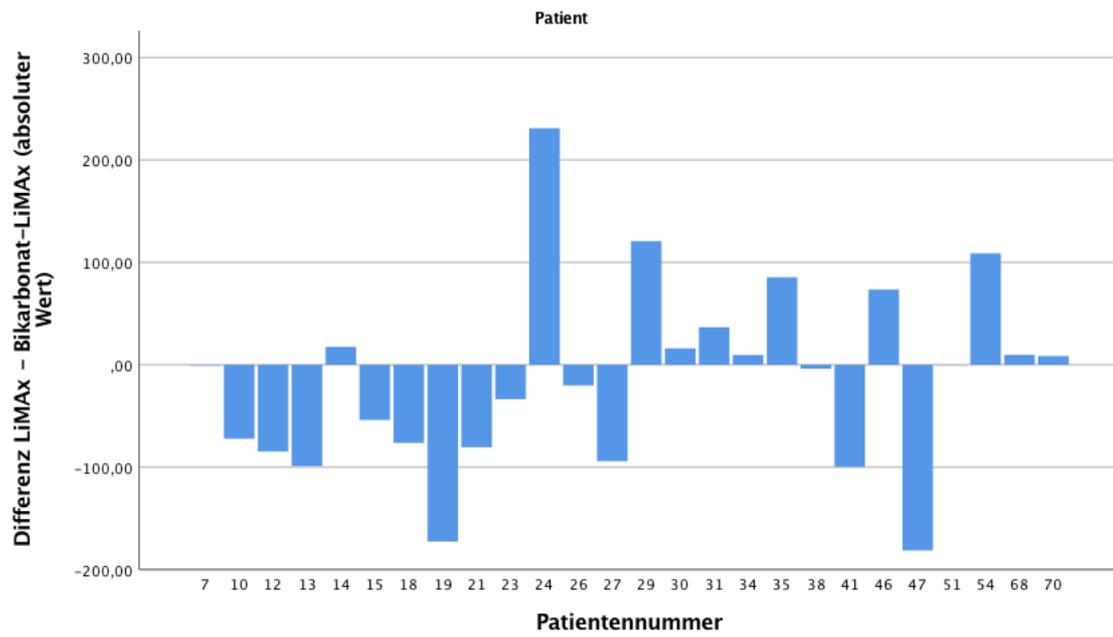
Die mittlere Differenz zwischen dem LiMAX und dem Bikarbonat-LiMAX in Prozent lag bei den Probanden bei 3,29% (-4,35-18,87%), bei den Patienten bei 0,71% (-16,92-17,20%).

In den folgenden vier Abbildungen sind die Differenzen zwischen dem LiMAX und dem Bikarbonat-LiMAX für jeden Studienteilnehmer in absoluten Werten sowie in Prozent

dargestellt. Dafür wurde jeweils der Wert des Bikarbonat-LiMAx vom Wert des LiMAx abgezogen, sodass durch einen negativen, absoluten Wert eine Erhöhung des LiMAx-Wertes im Rahmen der zweiten Messung nach dem Bikarbonat-Studienprotokoll angezeigt wird.

Bei den Probanden wiesen acht einen höheren LiMAx als Bikarbonat-LiMAx auf, 13 dagegen zeigten einen höheren Wert bei der zweiten Messung. Bei den Patienten hatten zwölf der 26 Patienten einen höheren LiMAx als Bikarbonat-LiMAx, entsprechend umgekehrt war es bei vierzehn Patienten.





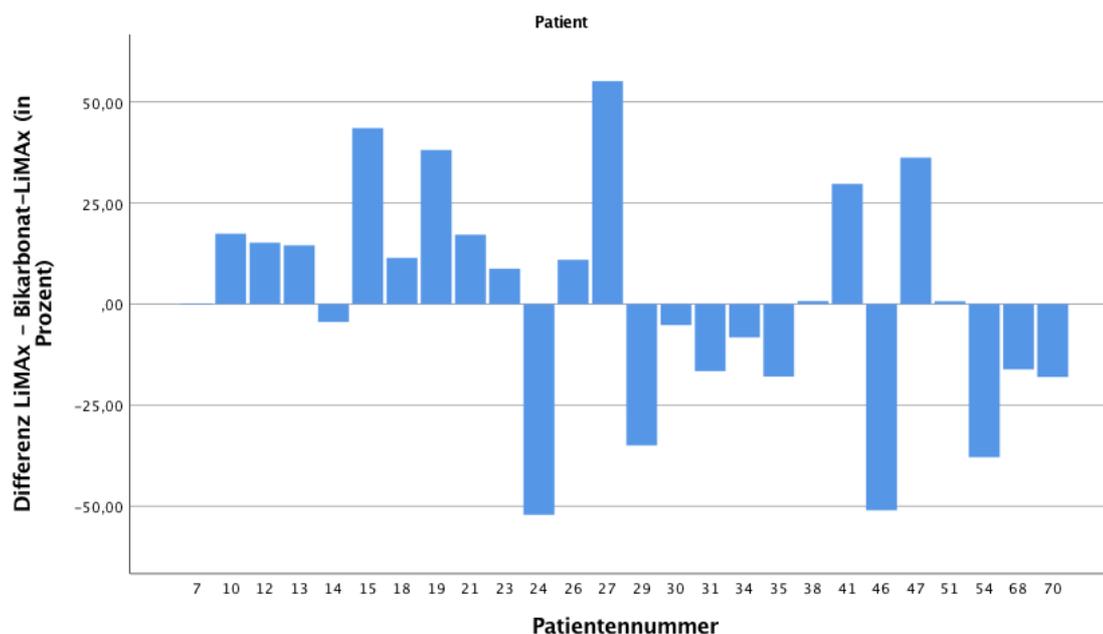


Abbildung 22: Balkendiagramm zur Darstellung der Differenz von LiMAX-Wert und Bikarbonat-LiMAX-Wert für jeden Studienteilnehmer (1&2 absolute Werte Proband – Patient, 3&4 Angaben in Prozent Proband-Patient)

Wird die Differenz für Gruppen, die entsprechend der Höhe des LiMAX-Tests in „normal  $>315$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , erniedrigt  $<315$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , stark erniedrigt  $<150$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  und gesunde Probanden“ eingeteilt wurden, betrachtet, zeigen sich folgende Werte:

Bei Patienten mit normalem LiMAX liegt die durchschnittliche absolute Differenz bei 84,83  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (33,66-120,60  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,233$ ), bei erniedrigtem LiMAX bei 36,66  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (18,11-101,50  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,686$ ), bei einem LiMAX  $<150$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  bei 9,54  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  (6,41-58,82  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ,  $p = 0,345$ ). Die relative Abweichung liegt bei 11,44% (-4,40-17,41%) bei Patienten mit normalem LiMAX, -5,18% (-27,25-33,00%) bei Patienten mit erniedrigtem LiMAX und -12,18% (-26,29-11,40%) bei Patienten mit einem LiMAX unter 150  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ . Bei den Patienten mit erniedrigten LiMAX und sehr niedrigem LiMAX unter 150  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  liegt die relative mediane Abweichung zwischen dem LiMAX und dem Bikarbonat-LiMAX im negativen Bereich, der Bikarbonat-LiMAX ist in diesen Gruppen somit um durchschnittlich 5,18% und 12,18% geringer als der LiMAX nach dem Standardprotokoll. In den anderen Gruppen ist der Bikarbonat-LiMAX im Durchschnitt höher als der LiMAX nach dem Standardprotokoll.

In der Gruppe der Patienten mit einem LiMAX unterhalb des Referenzwertes von 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  aber einem Wert über 150  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  ist die relative Differenz am geringsten, die absolute mittlere

Differenz mit knapp 36,66  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  für die erniedrigten Werte jedoch relativ hoch. Ebenso ist der Interquartilsabstand mit 18,11-101,50  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  recht hoch. Dies spricht dafür, dass es in dieser Gruppe eine erhöhte Anzahl an Ausreißern in beide Richtungen gibt.

Die Unterschiede Bikarbonat-LiMAX-Test zu normalem LiMAX-Test führen insbesondere im Bereich von erniedrigtem und stark erniedrigtem LiMAX zu einer schlechteren Trennschärfe.

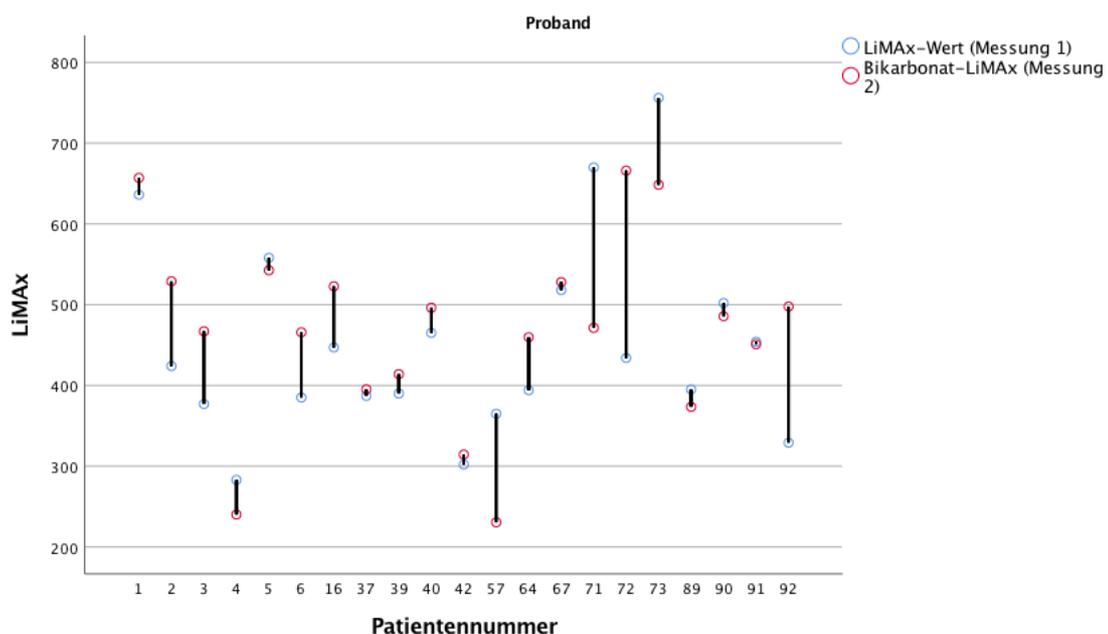
Zur Beurteilung der Wiederholungsgenauigkeit wurde der Intraklassen Korrelationskoeffizient (ICC) bestimmt. Dabei wurde die Wiederholungsgenauigkeit als schlecht (ICC 0,00-0,40), ausreichend (ICC 0,40-0,75) oder sehr gut (ICC >0,75) beurteilt.

In der Publikation von Jara, M et al. (38) konnte gezeigt werden, dass der LiMAX-Test bei lebergesunden Patienten eine gute Wiederholungsgenauigkeit zeigt. In der Publikation lag der individuelle ICC bei 0,85 mit einem 95% Konfidenzintervall von 0,69-0,93.

Für unsere Studienpopulation zeigt sich ein ICC von 0,931 (95% Konfidenzintervall 0,876-0,961), woraus sich im Vergleich zur Arbeit von Jara, M et al. (38) schließen lässt, dass die vorherige Bikarbonat-Gabe die Wiederholungsgenauigkeit nicht verändert.

Für die Probanden lag der ICC dabei bei 0,806 (95% Konfidenzintervall 0,528-0,921), für die Patienten bei 0,950 (95% Konfidenzintervall 0,890-0,978).

In der folgenden Abbildung werden die LiMAX- und Bikarbonat-LiMAX-Werte für jeden Studienteilnehmer im Vergleich dargestellt.



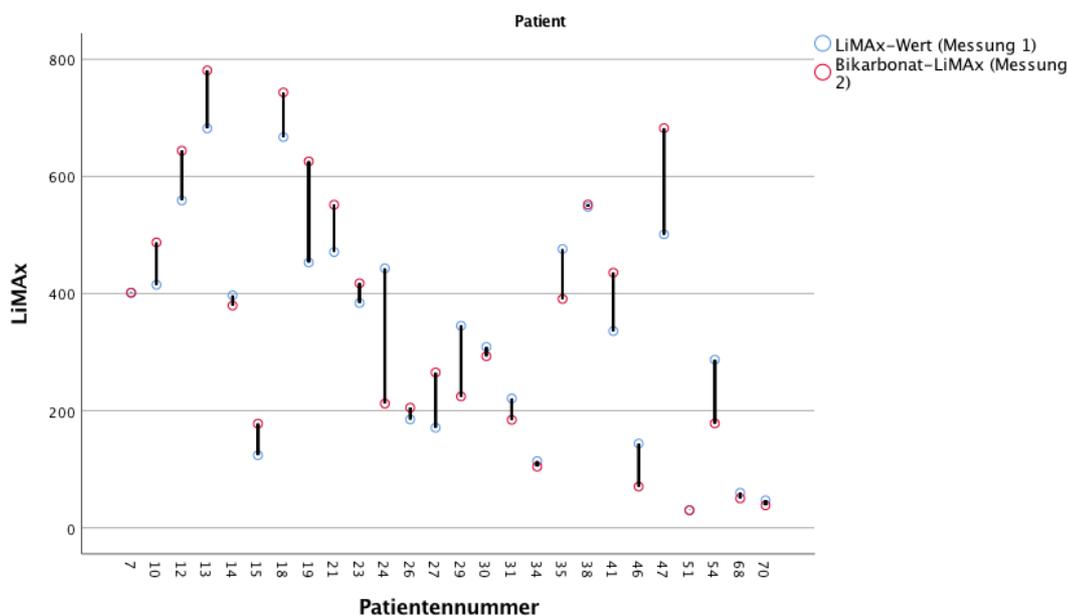


Abbildung 23: Liniendiagramm zur Darstellung der Dynamik zwischen LiMAX und Bikarbonat-LiMAX für jeden Studienteilnehmer (1 Probanden, 2 Patienten)

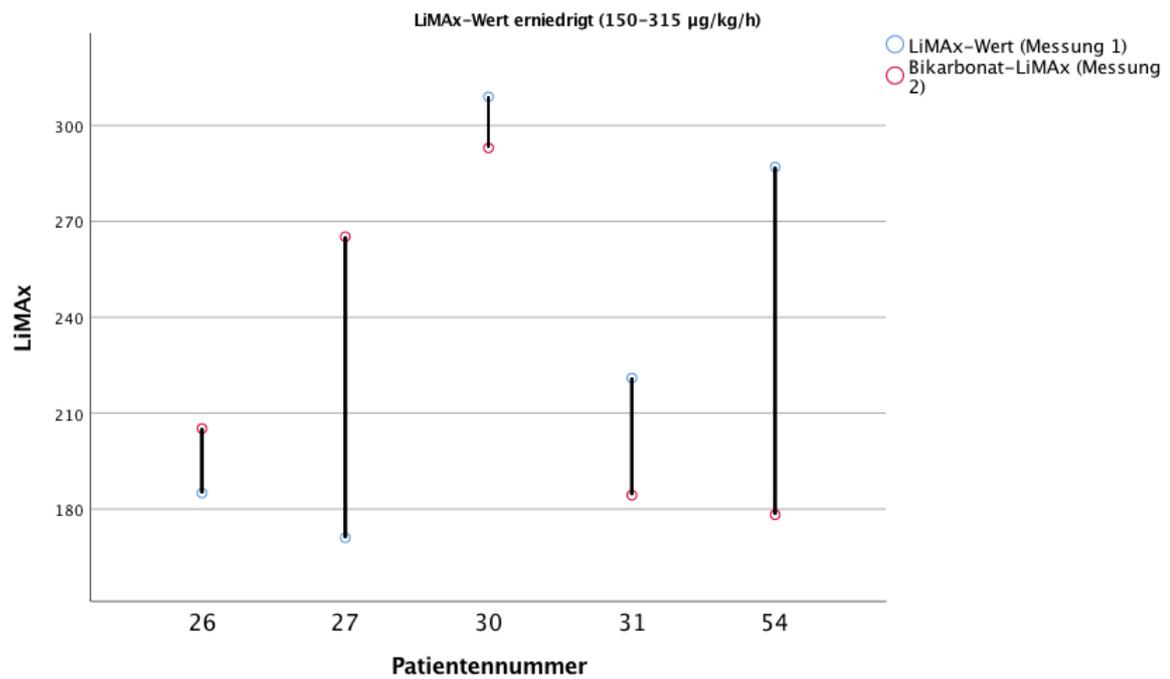
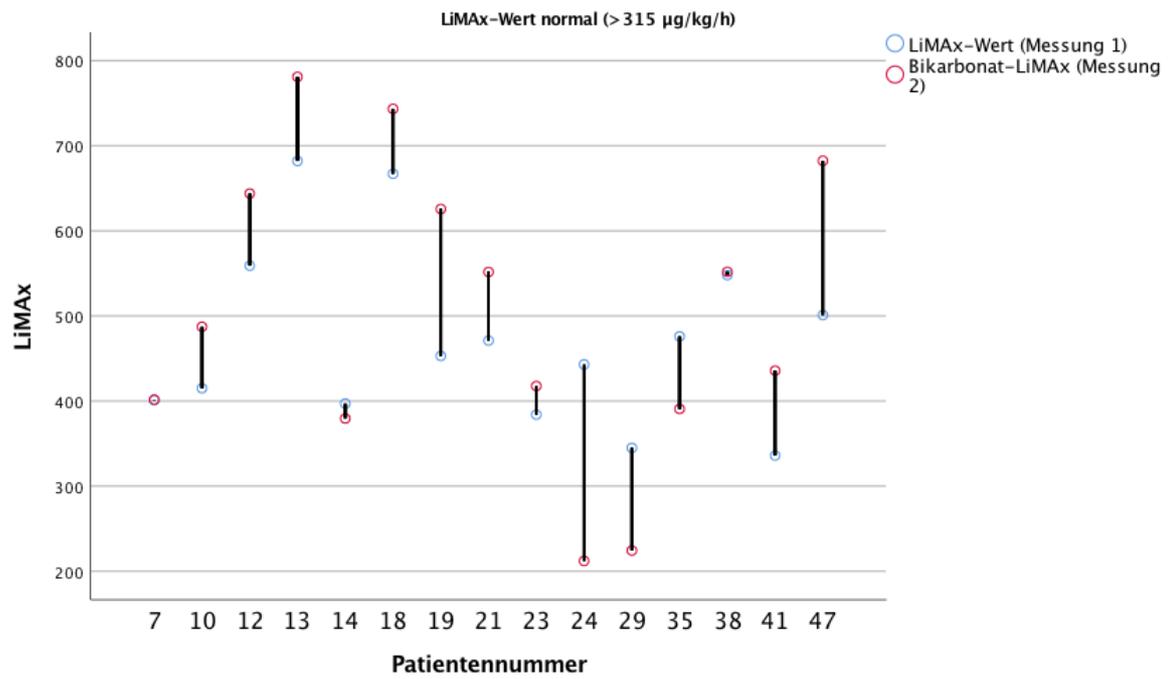
Betrachtet man auch den ICC für die oben genannten Gruppen eingeteilt nach Höhe des LiMAX, ergeben sich folgende Werte:

Für Patienten mit normalem LiMAX lag der ICC bei 0,824 (95% Konfidenzintervall 0,494-0,940), mit erniedrigtem LiMAX unter 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  bei 0,258 (95% Konfidenzintervall 17,705-0,933), wobei die relative Differenz, wie oben beschrieben, eher gering, die Standardabweichung aber eher hoch ist.

Bei Patienten mit einem LiMAX unter 150  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  zeigte sich ein ICC von 0,835 (95% Konfidenzintervall -0,280-0,977). Dabei zeigt sich eine wesentlich schlechtere

Wiederholungsgenauigkeit bei den Patienten mit erniedrigtem LiMAX. Diese Gruppe stellt im Rahmen dieser Subgruppenanalyse mit insgesamt 5 Patienten die kleinste der Gruppen dar.

Genauer betrachtet zeigten sich zwei deutliche Ausreißer: der Patient mit der Studiennummer 27 zeigt eine absolute Differenz von 94,21  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  bei einem Ausgangs-LiMAX von 171  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , wobei der Bikarbonat-LiMAX mit 265  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  einen größeren Wert aufweist. Die Patientin mit der Studiennummer 54 wies eine absolute Differenz von 108,78  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  bei einem Ausgangs-LiMAX von 287  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  auf, in diesem Fall lag der Bikarbonat-LiMAX niedriger.



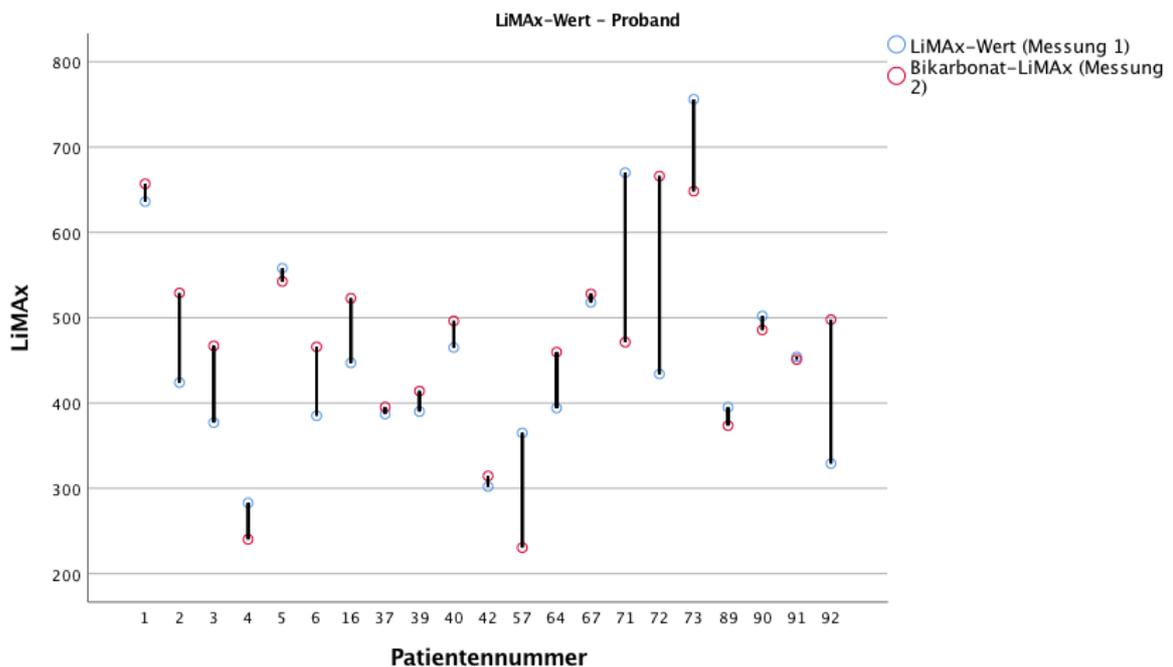
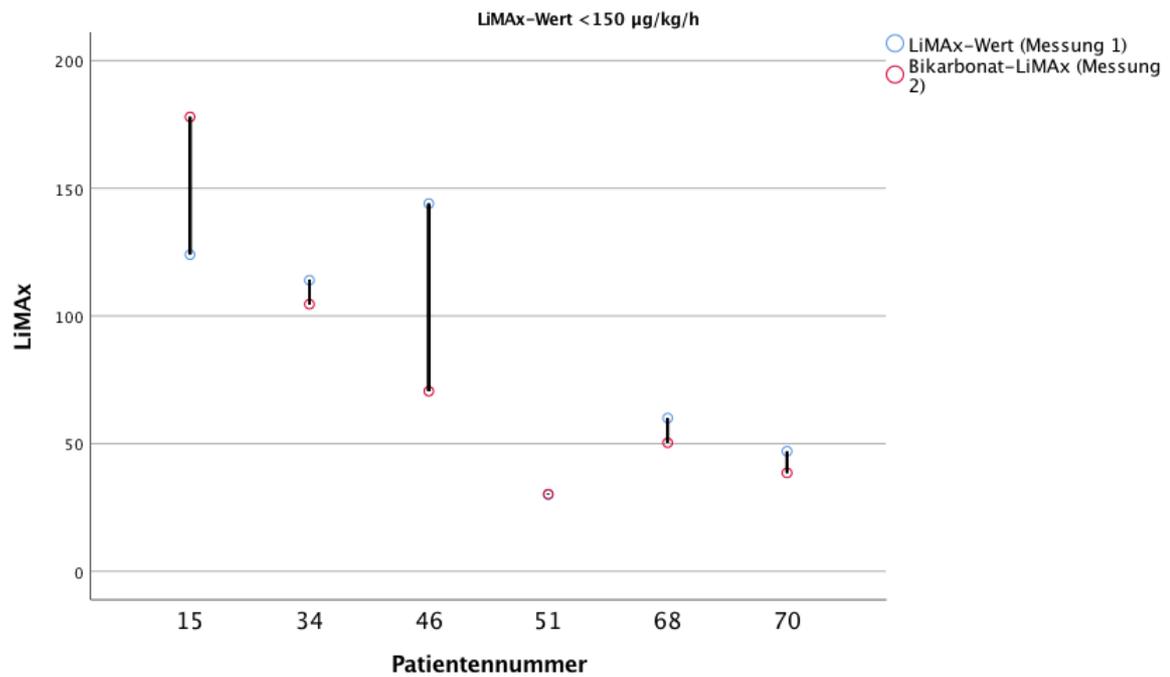
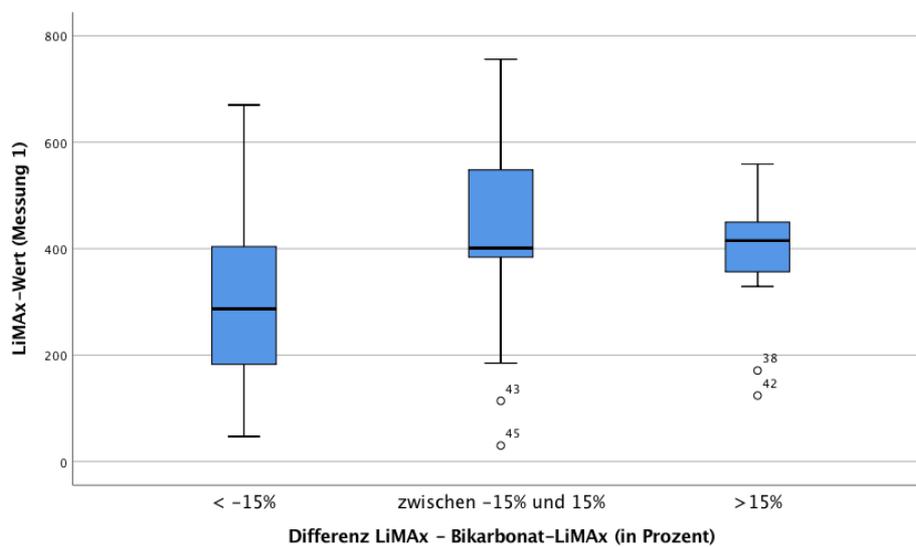


Abbildung 24: Liniendiagramm zur Darstellung der individuellen Wiederholungsgenauigkeit eingeteilt in die vier Gruppen nach Höhe des LiMAX-Wertes (1 normaler LiMAX  $>315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , 2 erniedrigter LiMAX zwischen  $150$  und  $315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ , 3 stark erniedrigter LiMAX  $<150 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  und 4 gesunde Probanden)

Teilt man die Studienpopulation anhand der Differenz zwischen dem LiMAx nach Standardprotokoll und dem Bikarbonat-LiMAx in 3 Gruppen ein (Differenz  $< -15\%$ ,  $> 15\%$  und zwischen  $-15\%$  und  $15\%$ ), ergibt sich das in der folgenden Abbildung dargestellte Bild.

Die Patienten mit niedrigem LiMAx und Bikarbonat-LiMAx liegen im Durchschnitt in der Gruppe, in der der Bikarbonat-LiMAx tendenziell über  $15\%$  niedriger ist als der LiMAx.



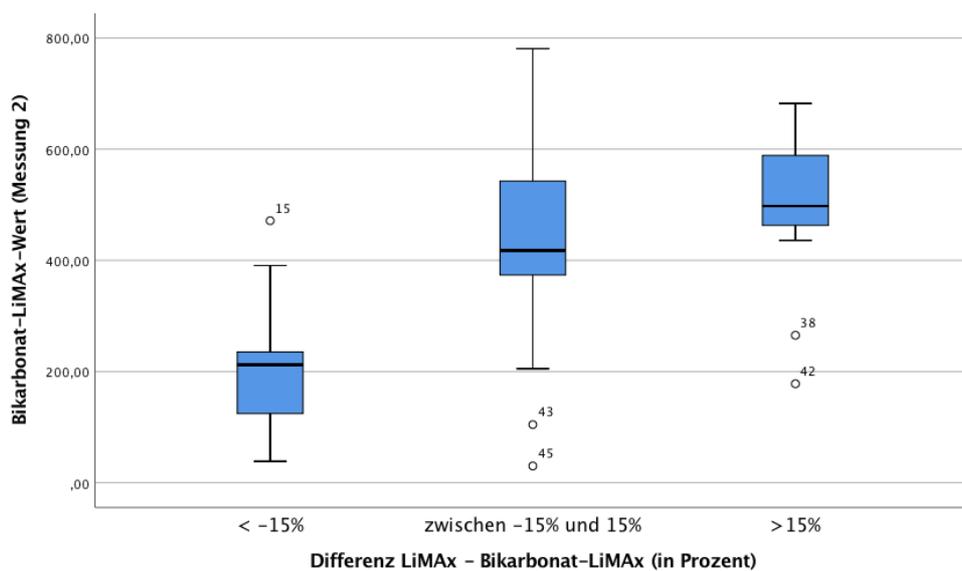


Abbildung 25: Boxplot zur Darstellung der Differenz zwischen dem LiMAX nach Standardprotokoll und dem Bikarbonat-LiMAX in 3 Gruppen ein (Differenz < -15%, > 15% und zwischen -15% und 15%) in Bezug zum absoluten LiMAX-Wert (1) bzw. Bikarbonat-LiMAX-Wert (2)

Für die statischen Leberfunktionswerte zeigen sich jedoch keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

#### 4.4.2 Bikarbonat-LiMAX und leberspezifische Patientencharakteristika

Zur Vergleichbarkeit des Bikarbonat-LiMAX mit dem LiMAX nach dem Standardprotokoll soll im folgenden Abschnitt untersucht werden, ob sich zwischen dem Bikarbonat-LiMAX und den leberspezifischen Laborparametern ebenfalls ein Zusammenhang zeigen lässt.

Auch beim Bikarbonat-LiMAX konnte eine negative Korrelation mit dem MELD-Score gezeigt werden (-,410,  $p = 0,010$ ).

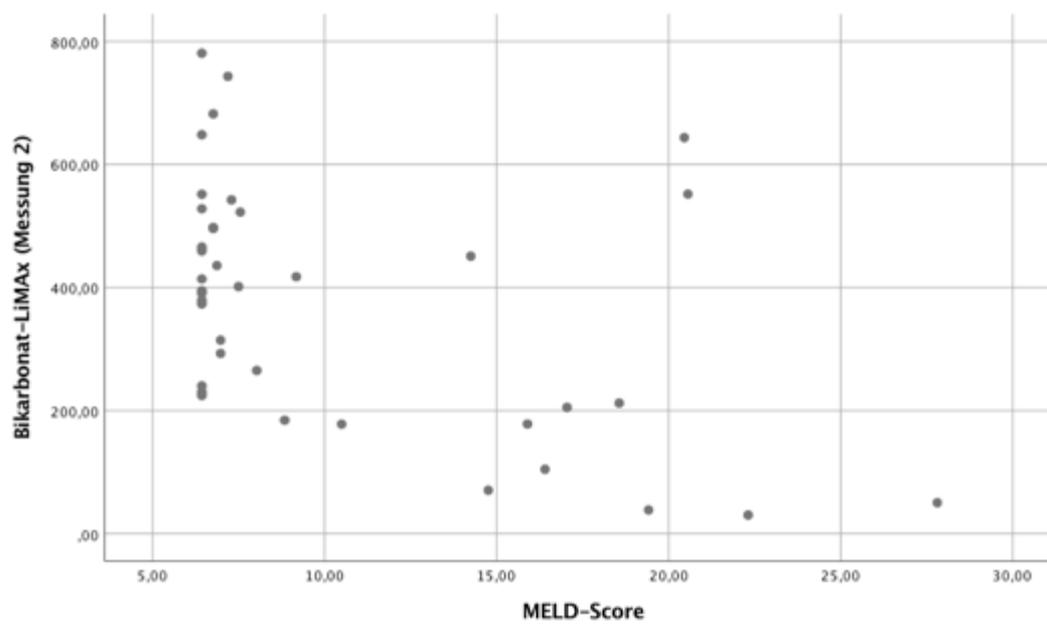


Abbildung 26: Scatterplot zur Darstellung des Bikarbonat-LiMAX-Wertes und dem MELD-Score

Auch für die im obigen Abschnitt vorgestellten leberspezifischen Laborparameter zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit dem Bikarbonat-LiMAX.

Für die GOT zeigte sich eine signifikante negative Korrelation (-,539) mit einem p-Wert von <0,001, für die GPT ebenfalls (-,347, p-Wert 0,025).

Ferner zeigt auch die PCHE eine signifikante negative Korrelation (-,539) mit einem p-Wert von 0,001.

Für den INR zeigte sich eine nicht signifikante inverse Korrelation (-,300) bei einem p-Wert von 0,056.

Auch das Bilirubin zeigte analog zum LiMAX eine signifikante Korrelation mit dem Bikarbonat-LiMAX (-,418, p = 0,005).

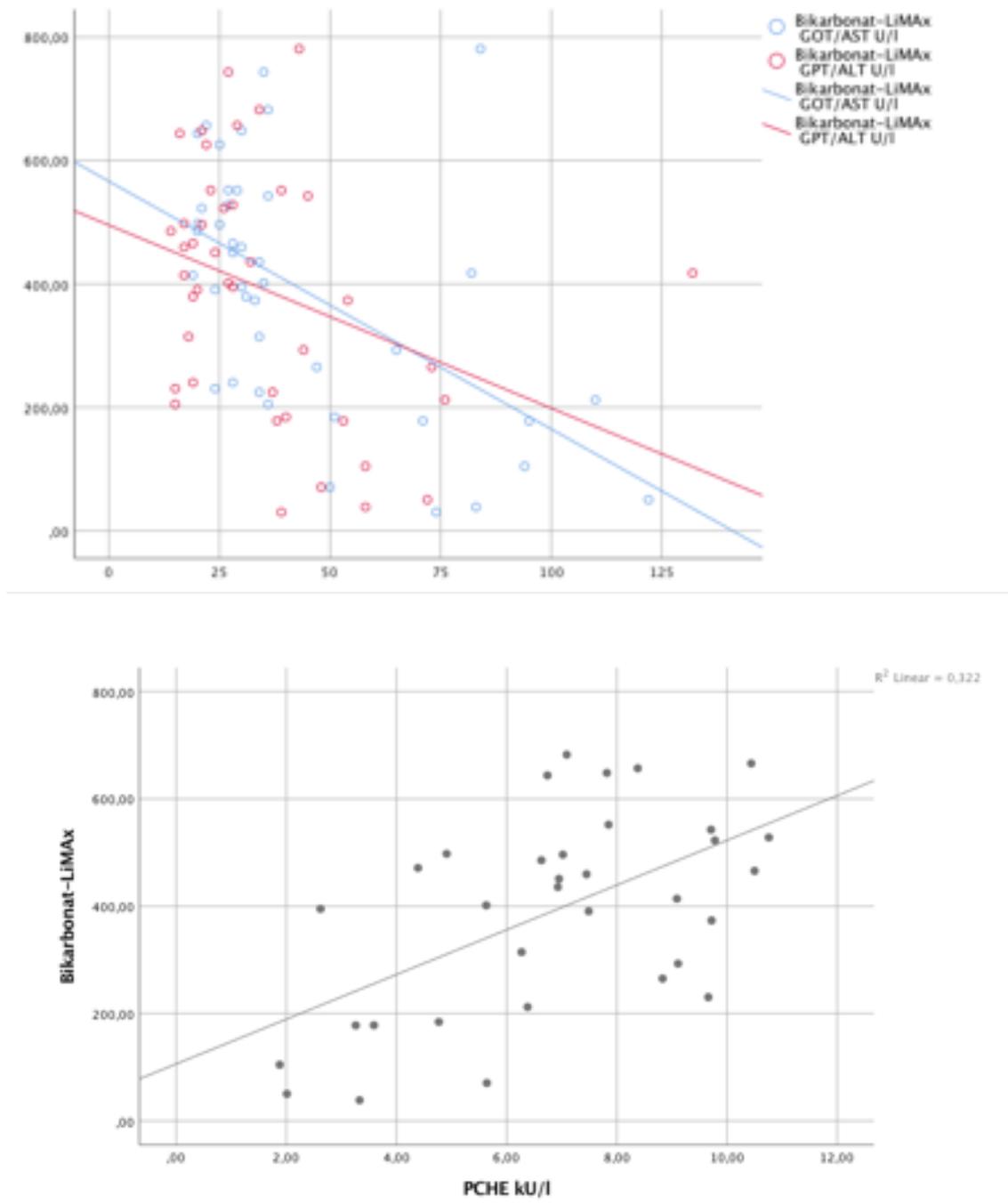


Abbildung 27: Darstellung des Bikarbonat-LiMax-Wertes und der Transaminasen (1) bzw. der PCHE (2)

Werden die oben genannten statischen Leberfunktionsparameter in je zwei multiple Regressionsanalysen einbezogen, zeigt sich für die Transaminasen ein signifikantes Regressionsmodell. Für die GOT ergibt sich ein Regressionskoeffizient von -4,727 bei einem p-Wert von 0,002, für die GPT beträgt der Regressionskoeffizient 1,165 bei einem p-Wert von

0,502. Für die PCHE und das Bilirubin ergibt sich ebenfalls ein signifikantes Regressionsmodell. Für die PCHE ergibt sich ein Regressionskoeffizient von 11,533 mit einem p-Wert von 0,301, für das Bilirubin ein Regressionskoeffizient von -48,664 bei einem p-Wert von 0,000.

#### 4.4.3 Bikarbonat-LiMAX und die Nierenfunktion

Die Nierenfunktion hat einen großen Einfluss auf das Bikarbonat-Kohlenstoff-System des menschlichen Körpers, sodass im folgenden Abschnitt kurz der Einfluss der Nierenfunktion auf den Bikarbonat-LiMAX untersucht werden soll.

Zur Evaluation der Nierenfunktion werden im Folgenden der Kreatinin-Wert in mg/dl, die geschätzte GFR in ml/min sowie der Kalium-Wert in mmol/ml verwendet. Keiner der Parameter zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Probanden und den Patienten.

In der untersuchten Studienpopulation hatten die Probanden im Durchschnitt einen Kreatinin-Wert bei der ersten Messung von 0,84mg/dl (0,76-0,94), die Patienten zeigten im Durchschnitt ebenfalls einen normwertigen Kreatinin-Wert, der Median lag bei 0,8 (0,7-0,98) ( $p = 0,878$ ) bei einem laboreigenen Referenzbereich von 0,50-0,90 mg/dl. Die durchschnittliche GFR war im Median bei beiden Gruppen normwertig, sie betrug bei den Probanden 90ml/min (88,25-90) und bei den Patienten 90ml/min (80-90).

Der Kalium-Wert lag in der Studienpopulation mit dem Median im Referenzbereich (3,5-4,5 mmol/ml), für die Probanden wurde durchschnittlich ein Wert von 4,0mmol/l (3,7-4,15) gemessen, für die Patienten ein Wert von 4,2 (3,8-4,4,  $p = 0,063$ ).

In der durchgeführten Korrelations- und einfachen Regressionsanalyse zeigte sich jedoch keine signifikante lineare Korrelation bzw. kein signifikantes Regressionsmodell für alle Parameter der Nierenfunktionsparameter mit dem Bikarbonat-LiMAX, auch in der multiplen Regressionsanalyse ist bereits das Modell unter Einbezug der drei Parameter nicht signifikant. Werden nur die GFR und der Kreatinin-Wert einbezogen, zeigt sich eine signifikante Regressionsanalyse mit einem  $R^2$  von 0,190, wobei der Regressionskoeffizient des Kreatinins 74,415 ( $p = 0,008$ ) und der GFR 6,389 ( $p = 0,020$ ) beträgt. Eine Veränderung des Kreatinins um einen Wert von 1mg/dl würde somit eine Erhöhung des Bikarbonat-LiMAX nach sich ziehen. In der Abbildung 29 wird der Zusammenhang zwischen den Nierenwerten und dem Bikarbonat-LiMAX als Streudiagramm dargestellt. Knapp 90% der Studienteilnehmer weisen einen Kreatinin-Wert um 1mg/dl und eine GFR von deutlich über 80% auf, die Streubreite der Bikarbonat-LiMAX-Wert dagegen ist groß.

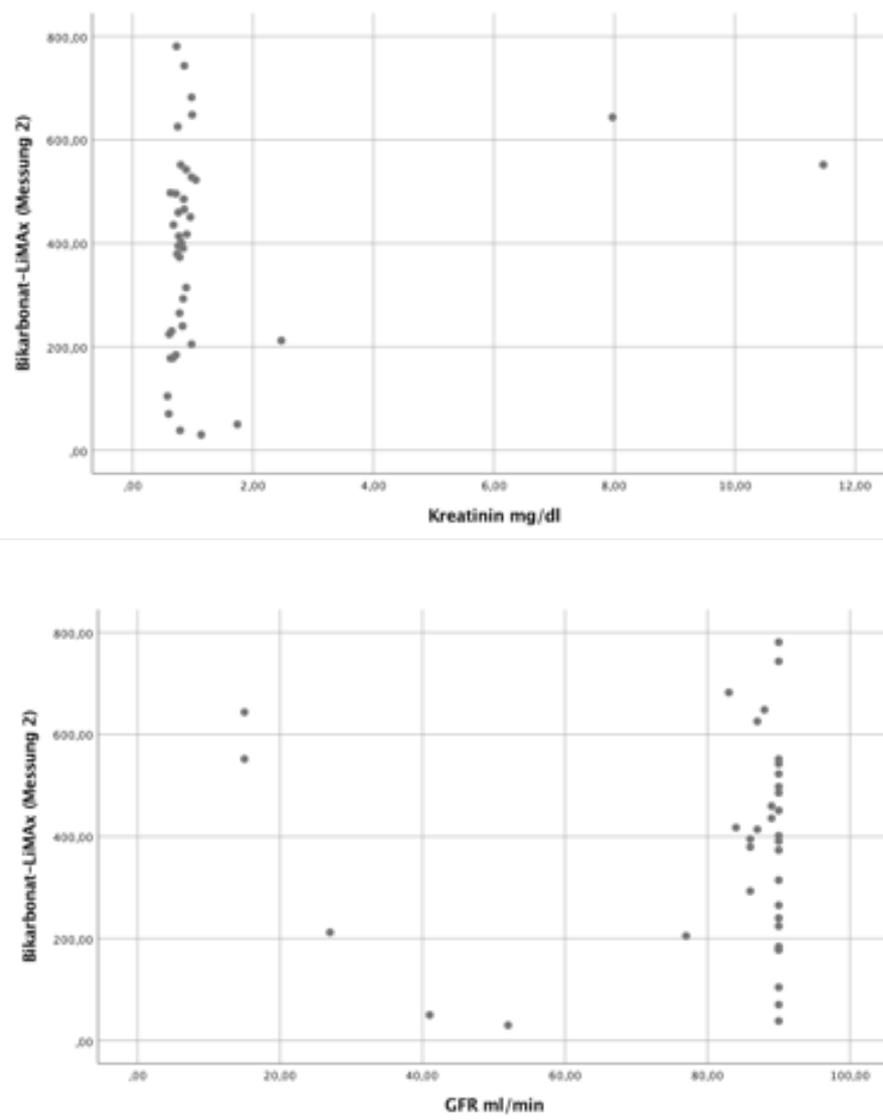


Abbildung 28: Darstellung des Bikarbonat-LiMAX-Wertes und dem Serum-Kreatinin (mg/dl) (1) bzw. der GFR (ml/min) (2) als Scatterplot

#### 4.4.4 Exponentieller Fit, AUC Daten und Abfall der Bikarbonatkurve

Wie bereits eingangs beschrieben, wurde für die Berechnung des Bikarbonat-LiMAX und zur Darstellung der Dynamik der CO<sub>2</sub>-Abatmungskurve nach Bikarbonatgabe ein exponentielles Fitting, bezogen auf die letzten 15 Minuten der Bikarbonatabatmungskurve, verwendet.

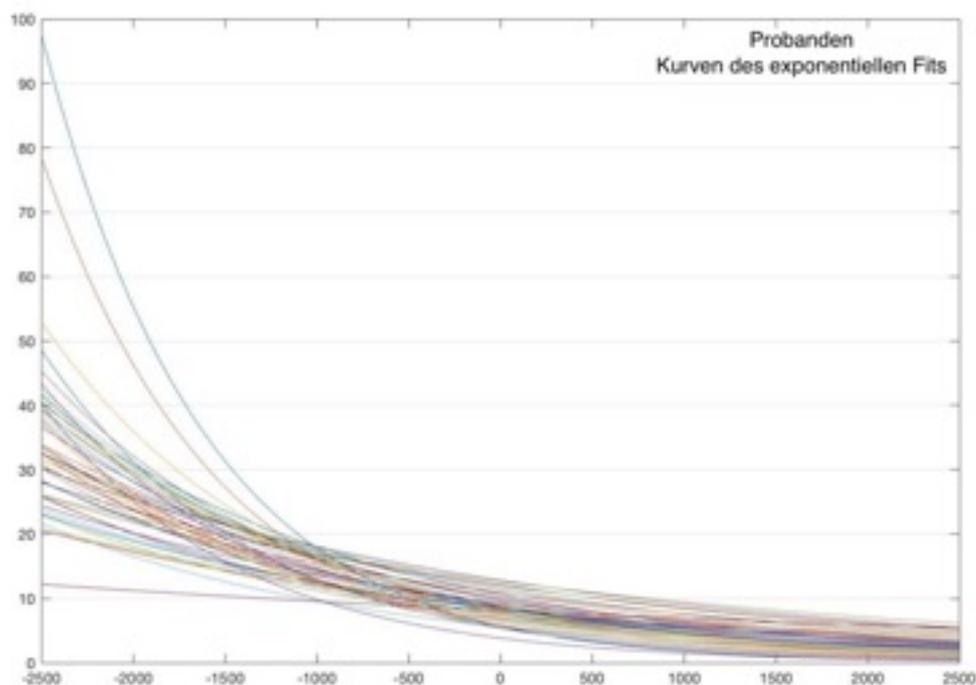
Die Steigung der Kurve, klein  $a$  in der unter 3.2.3.3 genannten Formel zur Berechnung des exponentiellen Fits, stellt somit die Steilheit bzw. die Geschwindigkeit des Abfalls der letzten 15 Minuten der Kurve dar.

Zusätzlich wurde Tau als Parameter für den Abfall bzw. die Geschwindigkeit des Abfalls für die gesamte Bikarbonatabatmungskurve vom höchsten DOB-Wert bis hin zum Beginn der Methacetin-Gabe mit Hilfe des Programms Clampfit® bestimmt.

Die zugrundeliegende Hypothese war, dass der erste Teil der Abatmungskurve, den schnellen Abatmungsanteil darstellt, der potentiell einem „first pass effect“ durch die Lunge entsprechen und somit bei jedem Menschen gleich sein könnte (55), der zweite Teil jedoch den langsameren Abatmungsanteil veranschaulicht, der von den verschiedenen Parametern der Bikarbonatkinetik im menschlichen Körper und dem Zusammenspiel der 3 Kompartimente abhängig sein könnte.

Im Folgenden soll nun untersucht werden, ob sich in unserer Studienpopulation Einflussfaktoren auf die Parameter der Bikarbonatkinetik, also auf die AUC Daten sowie den Kurvenabfall, identifizieren lassen.

In der Abbildung 29 wird zunächst ein Überblick über die gefitteten Kurven in grafischer Darstellung gegeben, getrennt nach Patienten und Probanden werden die Kurven für jeden einzelnen Studienteilnehmer dargestellt.



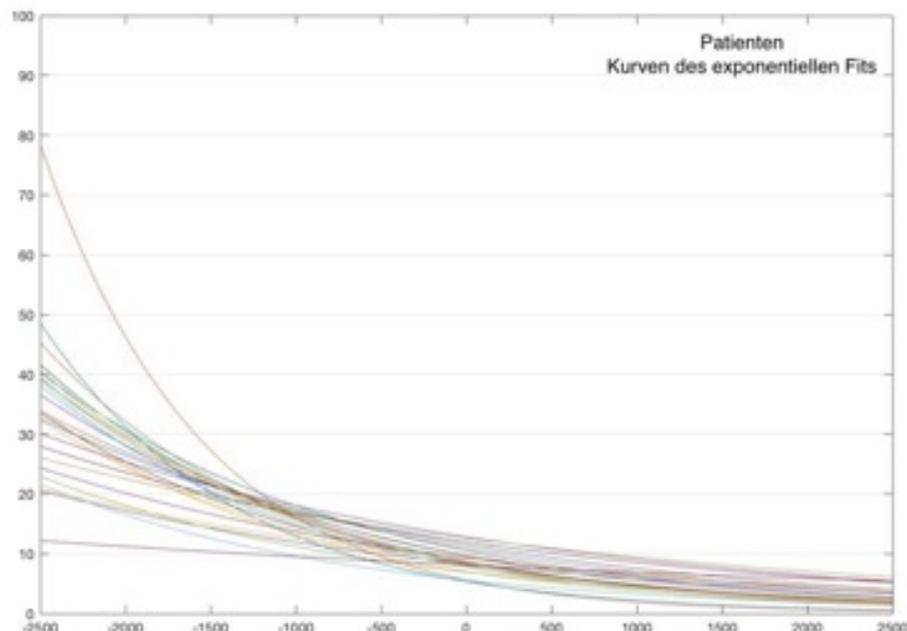


Abbildung 29: Fittingcurves für jeden individuellen Studienteilnehmer (1 Probanden, 2 Patienten)

In Tabelle 4 werden die Parameter der Bikarbonatkinetik für Probanden und Patienten im Überblick dargestellt, jeweils als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung.

Hierbei zeigt sich für die reinen Kinetikparameter kein signifikanter Unterschied zwischen Probanden und Patienten, weder für die AUC-Werte noch für die Parameter des Kurvenabfalls. Abbildung 30 zeigt die AUC für den Peak und die gesamte Bikarbonatkurve als Vergleich zwischen Patienten und Probanden in Form eines Boxplots.

Tabelle 4: AUC Daten im Überblick

	Probanden		Patienten		p-Wert
<b>AUC unter dem Bikarbonatpeak</b>	9690,3	(7508,2-13103)	10018,6	(8592,73-11841,25)	0,781
<b>AUC unter der Bikarbonatkurve bis zur Methacetinjektion</b>	32643,5	(30031,5-35057,25)	34384,00	(31630,75-39761,0)	0,169

<b>Tau</b>	71,918	(21,468)	78,661	(28,410)	0,492
<b>Steigung</b>	-0,00053010	-0,00076240	-0,00054730	-0,00062548	0,358
<b>Exponentieller Fit</b>		0,00044090		0,00037740	
<b>Länge des Peaks in Sekunden</b>	656,0	(504,5-848,0)	682,0	(581,0-776,25)	0,593
<b>Menge Bikarbonat in mg</b>	15,4	(13,3-17,36)	16,2	(13,93-18,3)	

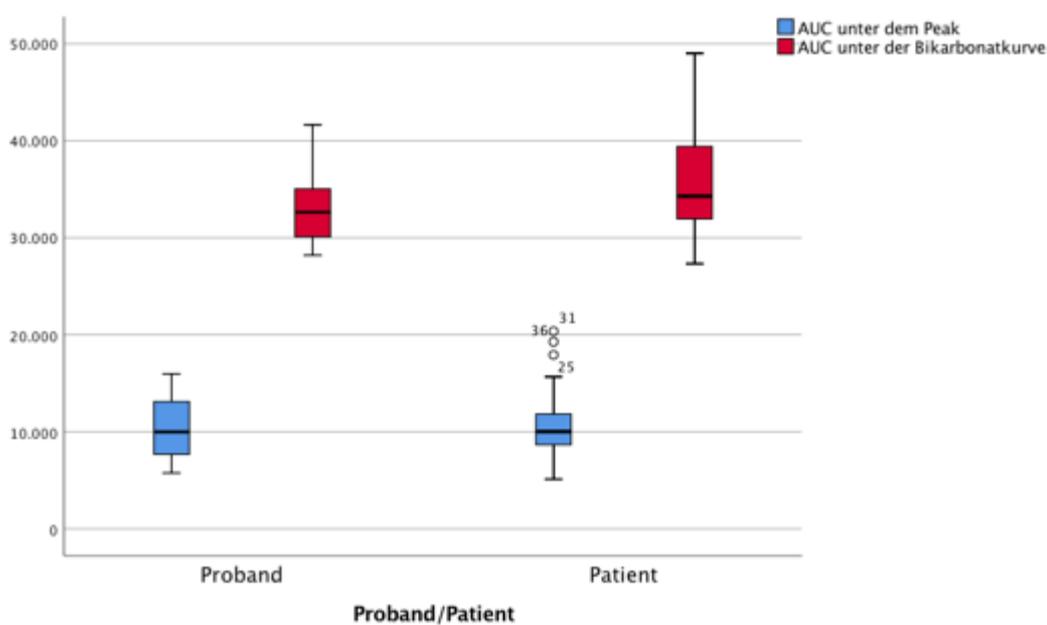


Abbildung 30: Vergleich der AUC-Werte für Patienten und Probanden (Boxplot mit den Messwerten als Median)

Um mögliche Einflussfaktoren auf die berechneten Kinetikparameter zu identifizieren, wurde zunächst eine Korrelationsanalyse nach Spearman durchgeführt.

Dabei zeigte sich eine mittelgradige Korrelation für die Fläche unter dem Peak mit dem LiMAX (Korrelationskoeffizient ,339,  $p = 0,020$ ), jedoch keine signifikante Korrelation mit dem Bikarbonat-LiMAX. Die Fläche unter der gesamten Bikarbonatkurve zeigte keine Korrelation zum LiMAX oder Bikarbonat-LiMAX.

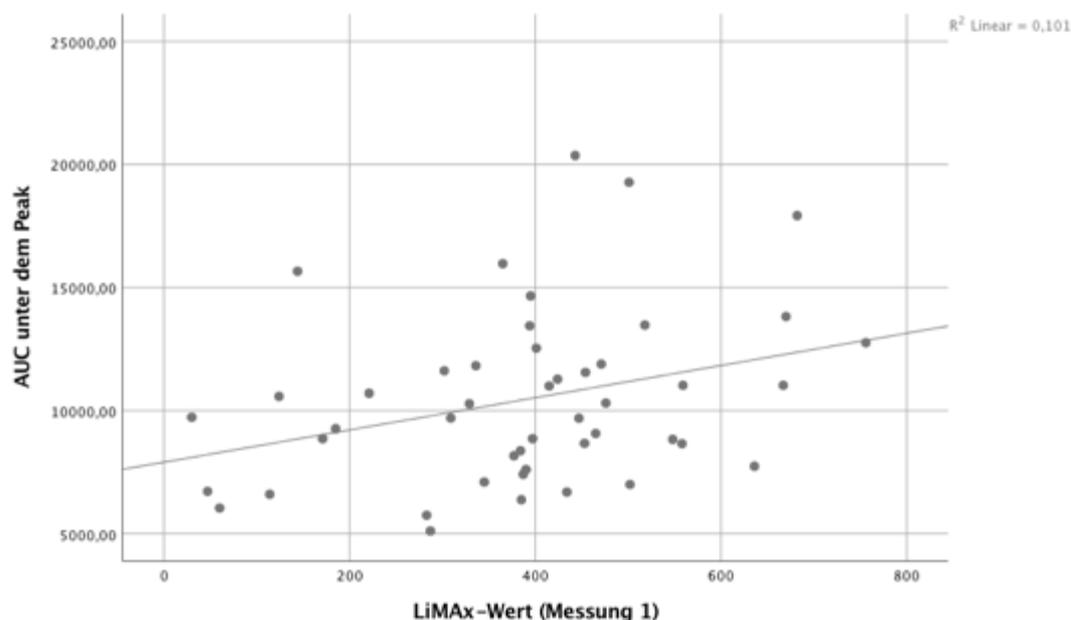


Abbildung 31: AUC unter dem Peak bezogen auf den LiMAX-Wert als Scatterplot

Die Fläche unter dem Peak zeigte eine lineare Korrelation zum BMI, aber es konnte kein Zusammenhang mit den statischen Leberfunktionsparametern oder den Nierenfunktionsparametern dargestellt werden.

Für die Länge des Peaks in Sekunden als zeitlicher Parameter zeigte sich ebenfalls keine signifikante Korrelation zu den erhobenen laborchemischen Parametern.

Die Fläche unter der gesamten Kurve zeigte einen Zusammenhang zu den Parametern: GOT, dem BMI sowie dem Gewicht.

Als weitere Kinetikparameter wurden darüber hinaus die Steigung der Kurve des exponentiellen Fits, Tau sowie die Länge des Peaks untersucht.

Für den exponentiellen Fit zeigte sich eine lineare Korrelation mit dem Bikarbonat-LiMAX und dem maximalen DOB-Wert im Rahmen der Bikarbonatmessung. Außerdem zeigte sich ein Zusammenhang mit folgenden Laborparametern: dem Natrium-Wert, den Transaminasen, der AP, der PCHE und dem Bilirubin-Wert. Zusätzlich korrelierte der BMI.

Der Parameter Tau wies eine signifikante Korrelation zum Gewicht, dem BMI und der Körperoberfläche der Patienten und Probanden auf. Es zeigte sich aber kein Zusammenhang zwischen Tau und der Leberfunktion, weder in Form der statischen Leberfunktionsparameter noch in Form des LiMAX-Tests.

Mit Hilfe einer multiplen Regressionsanalyse sollte darüber hinaus der Einfluss der Nierenfunktion sowie der Leberfunktion auf die Bikarbonatkinetikparameter untersucht werden. Die statischen Leberfunktionswerte wurden dabei, wie oben beschrieben, in inhaltlich zusammenpassende Untergruppen klassifiziert: Transaminasen als Indikatoren einer Leberzellschädigung, INR/Quick und PCHE als Syntheseparameter bzw. Thrombozyten und Quick/INR als Maß für die Gerinnungsaktivität.

Für die Nierenfunktionsparameter Kreatinin, GFR und Kalium zeigte sich für beide Flächen ein nicht signifikantes Regressionsmodell ( $p = 0,816$ ,  $r^2 = 0,028$  für AUC unter dem Peak,  $p = 0,339$ ,  $r^2 = 0,098$  für AUC unter der gesamten Bikarbonatkurve), sodass hier von keinem Einfluss der Nierenfunktionswerte auf die Bikarbonatkinetik ausgegangen werden kann.

Wie bei Betrachtung des Bikarbonat-LiMAx zeigt Abbildung 33 deutlich die große Streubreite der AUC Daten bei relativ homogener Verteilung der Kreatinin-Werte über die Studienpopulation.

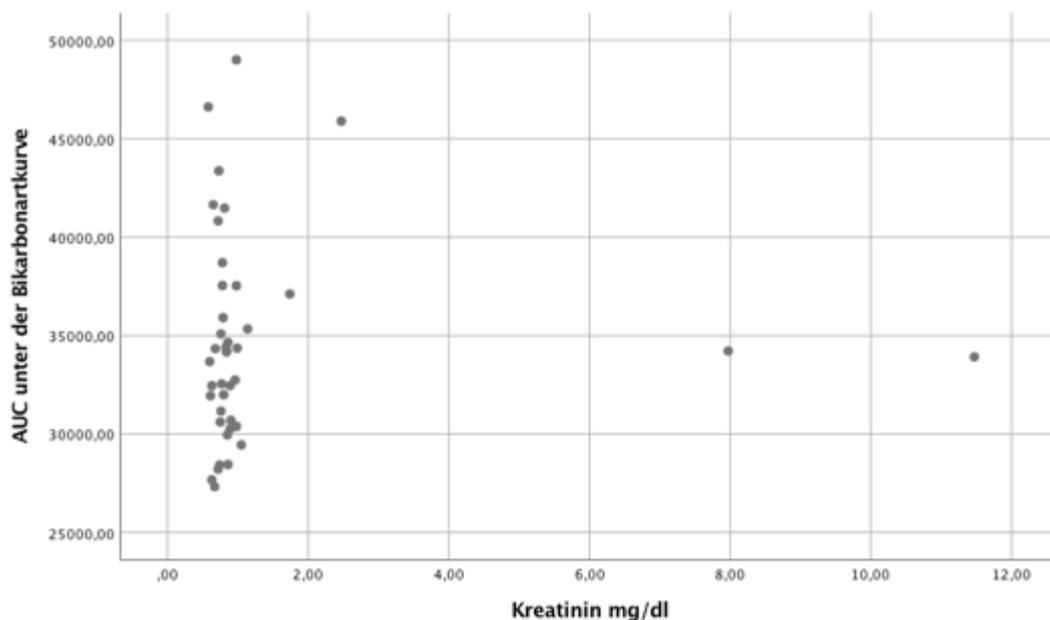


Abbildung 32: AUC unter der Bikarbonatkurve in Bezug auf den Serum-Kreatinin-Wert (in mg/dl) als Scatterplot

Für die laborchemischen Indikatoren einer Leberschädigung zeigte sich für beide Flächenwerte kein signifikantes Regressionsmodell.

Für die laborchemisch bestimmbaren Syntheseparameter zeigte sich kein signifikantes Modell ( $p = 0,202$ ,  $r^2 = 0,150$  und  $p = 0,932$ ,  $r^2 = 0,015$ ).

Für die Parameter des Gerinnungsstatus zeigte sich wiederum ein signifikantes Modell für die Fläche unter dem Peak ( $p = 0,033$ ,  $r^2 = 0,209$ ), nicht jedoch für die Fläche unter der gesamten Bikarbonatkurve ( $p = 0,093$ ,  $r^2 = 0,007$ ).

Im Modell mit der Fläche unter dem Peak als abhängige Variable wies jedoch nur die Thrombozytenzahl einen signifikanten Einfluss auf ( $p = 0,038$ , Regressionskoeffizient 14,235).

Zusammenfassend konnten wir mit Hilfe der von uns berechneten und ausgewählten Parameter der Bikarbonatkinetik keinen Unterschied zwischen Patienten und Probanden feststellen.

Das Gewicht, der BMI und die Körperoberfläche beeinflussten die Kinetikparameter am stärksten.

## 4.5 Lungenfunktionsdiagnostik

### 4.5.1 Patientencharakteristika

Die zweite Fragestellung dieser Promotion soll im folgenden Abschnitt beleuchtet werden.

Ob die Lungenfunktion einen Einfluss auf  $^{13}\text{C}$ -Atemtest, hier in Form des LiMAX, hat, wurde bisher in keiner Studie untersucht. Aus diesem Grund beinhaltete unser Studienprotokoll die Durchführung einer Lungenfunktionsuntersuchung.

Insgesamt erhielten von den 21 Probanden 19 eine Lungenfunktionsuntersuchung und von den 26 Patienten 18.

In der Tabelle 5 sind ausgewählte Parameter für Probanden und Patienten im Vergleich dargestellt. Im Durchschnitt zeigten jedoch sowohl die Probanden als auch die Patienten altersentsprechende Normalbefunde. Bei einem Probanden wurde im Rahmen der Studienuntersuchung ein Asthma bronchiale diagnostiziert, ein Patient zeigte den typischen Lungenfunktionsbefund einer COPD, eine Patientin zeigte den Befund einer obstruktiven und restriktiven Ventilationsstörung.

Tabelle 5: Lungenfunktionsparameter (Median (IQR))

	Probanden		Patienten		p-Wert
TLC (in l)	7,41	(6,06-8,66)	6,86	(4,83-7,42)	0,071
TGV (in l)	3,75	(3,37-4,64)	3,53	(2,92-3,98)	0,146
TGV (Ist/Soll in %)	114	(103-132)	100	(95,5-112)	0,035
RV (in l)	2,91	(2,4-3,27)	2,68	(2,03-3,30)	0,49
FEV1 (in l)	3,5	(2,86-4,53)	2,89	(2,51-3,39)	0,013
FEV1 (Ist/Soll in %)	98	(89-109)	89,5	(74,5-99,5)	0,061
VCin (in l)	4,28	(3,66-5,01)	3,66	(2,98-4,46)	0,036
VCin (Ist/Soll in %)	96	(87-102)	86	(70-94,75)	0,075
FEV1/FVCex (Ist in %)	83	(80-85)	81	(78-85)	0,327
FEV1/VCmax (Ist in %)	81	(77-84)	78	(74,5-84)	0,415
FEV1/VCmax (Ist/Soll in %)	103	(96-107)	100	(95,5-107)	0,851
FVCex (in l)	4,2	(3,57-5,19)	3,64	(2,96-4,27)	0,026
PEF (in l/s)	8,02	(6,35-9,6)	6,33	(4,94-7,91)	0,021
TLCO (mmol/min/kPa)	11,91	(8,94-14,03)	6,73	(5,84-8,29)	0,000

Zur besseren Interpretation der Lungenfunktionsdaten erfolgte zunächst eine Faktorenanalyse, um zusammengehörige Faktorengruppen bilden zu können. Die Zuordnung zu den einzelnen Gruppen erfolgte unter der Annahme, dass ein Wert  $> 0,60$  eine Zugehörigkeit zum Faktor anzeigt.

Mit Hilfe der Faktorenanalyse wurden zwei Faktoren identifiziert, deren zugeordnete Variablen inhaltlich eine sinnvolle Gruppenzusammenstellung darstellten. Entsprechend der zugeordneten Lungenfunktionsparameter und ihrer klinischen Aussage wurden diese Faktoren als „Obstruktive Ventilationsstörung/forcierte Expiration“ und „Lungenvolumina“ benannt.

Entsprechend der Faktorenanalyse wurden die Parameter FEV1, FVCex, PEF, VC, MEF 75 und 50 gemeinsam betrachtet und entsprechend der klinischen Aussage der Gruppe „Obstruktive Ventilationsstörung/forcierte Expiration“ zugeordnet. Die Parameter TLC, TGV, RV wurden als Messgrößen der Lungenvolumina gemeinsam analysiert.

Zusätzlich wurden die Parameter der Diffusionsmessung in die Analyse einbezogen. Die Diffusionsleitfähigkeit von Kohlenstoffdioxid, der sogenannte Krogh-Diffusionskoeffizient,

übersteigt die Diffusionskapazität von Sauerstoff um das 20-23fache, was vor allem durch die bessere Löslichkeit von Kohlenstoffdioxid im Blut bedingt ist und so dazu führt, dass bei Vorliegen einer Diffusionsstörung primär die Sauerstoffversorgung eingeschränkt ist, nicht aber die Abatemungskapazität von Kohlenstoffdioxid (46). Mit Fortschreiten der zugrundeliegenden Erkrankung führte jedoch auch eine fortgeschrittene Diffusionsstörung im Verlauf zu einer Einschränkung der Kohlenstoffdioxidabgabe.

#### 4.5.2 Beeinflusst die Lungenfunktion die CO<sub>2</sub>-Abatemung nach <sup>13</sup>C-Bikarbonatgabe?

Im folgenden Abschnitt soll untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Lungenfunktion und den verschiedenen Parametern der Bikarbonatkinetik besteht.

Die Fläche unter dem Bikarbonatpeak zeigte keine signifikante Korrelation mit der Lungenfunktion. Eine Normierung der Fläche auf die Körperoberfläche oder die Menge des gegebenen Bikarbonats führte zu keiner Veränderung.

Die Länge des Peaks in Sekunden zeigte ebenfalls keine signifikante Korrelation zu den Lungenfunktionsparametern.

Für die gesamte Fläche unter der Bikarbonatkurve zeigte sich keine Korrelation zu den Indikatoren für obstruktive Ventilationsstörungen oder den Lungenvolumina. Sie korrelierte jedoch mit Residualvolumen, das mittels der Helium-Methode bestimmt wurde (RV/He in l). Der Korrelationskoeffizient betrug -,648 bei einem p-Wert von 0,007.

Der Parameter Tau als Maß für den Abfall der Bikarbonatkurve zeigte eine signifikante Korrelation mit dem Residualvolumen bezogen auf die totale Lungenkapazität (RV/TLC, -0,556, p = 0,017), dem PEF (PEF Ist/Soll in % -,526, p = 0,025) sowie dem maximalen expiratorischen Fluss nach Abatemung von 75% der gesamten Vitalkapazität (MEF 75% in Ist/Soll %, -,532, p=0,023), alles Parameter aus der Gruppe der forcierten Expiration bzw. Marker für eine obstruktive Ventilationsstörung (64).

Der PEF stellt die maximale Ausatemungsgeschwindigkeit dar, die bei obstruktiven Störungen stark vermindert ist. Ein hoher PEF in Litern/Sekunde ermöglicht somit eine schnelle Abatemung, in unseren Daten zeigt sich daraufhin ein geringeres Tau und somit ein beschleunigter Abfall der Bikarbonatkurve. Wie der PEF stellt auch der maximale expiratorische Fluss nach Ausatemung von bestimmten Anteilen der Vitalkapazität (in dem Fall 75%, 50% und 25%) einen dynamischen expiratorischen Parameter dar, der bei obstruktiven Lungenerkrankungen typischerweise reduziert ist (64).

Das RV stellt im Gegensatz dazu das Volumen dar, das bei einem Atemzug aus physikalischen Gründen nicht abgeatmet werden kann, jedoch am Gasaustausch teilnimmt. In unseren Daten war ein hohes RV mit einem niedrigen Tau assoziiert.

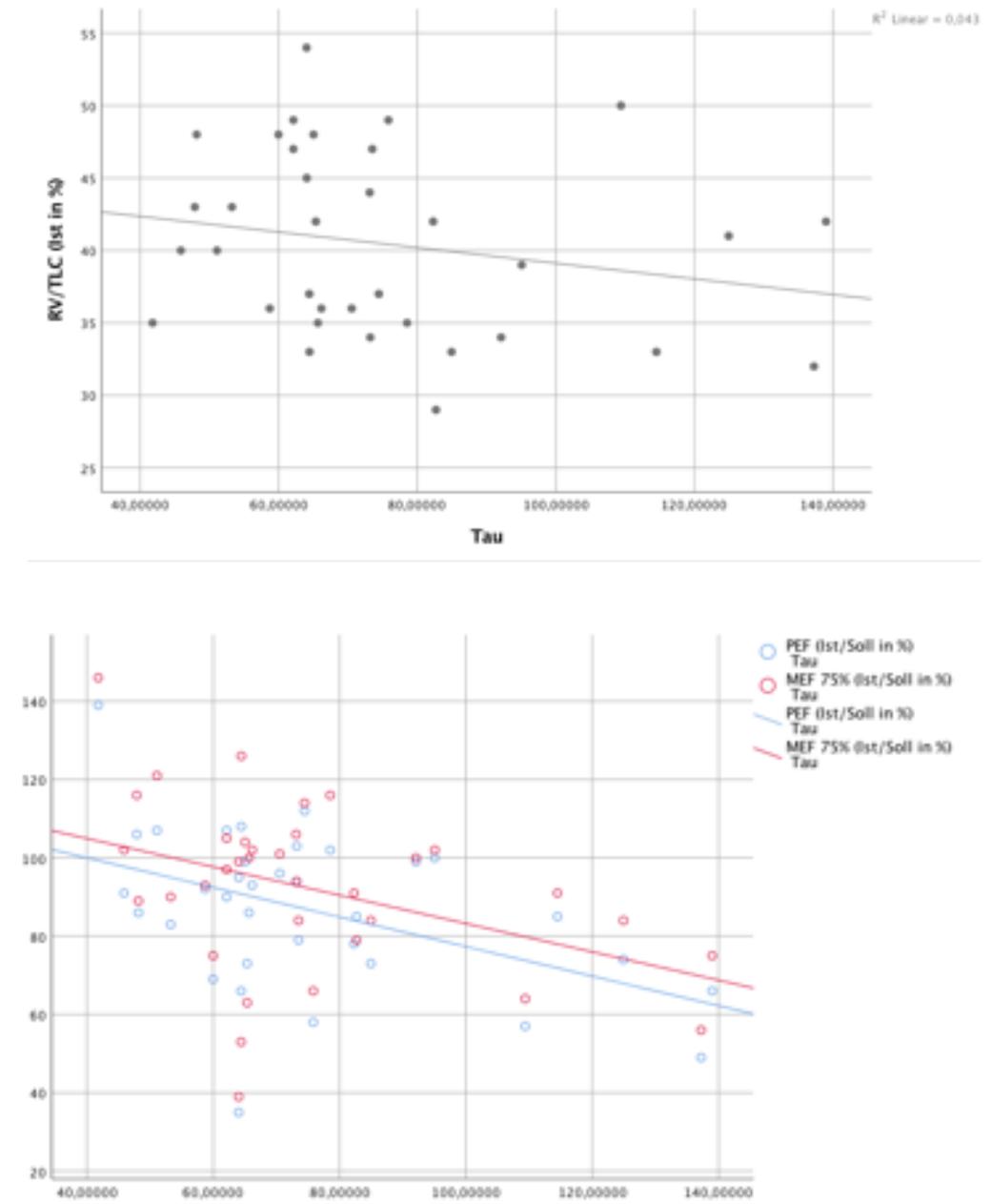


Abbildung 33: Darstellung der Lungenfunktionsparameter und dem Parameter des Kurvenabfalls Tau als Scatterplot

Für den Abfall/die Steigung der Kurve des exponentiellen Fits zeigte sich in der durchgeführten Korrelationsanalyse kein linearer Zusammenhang mit den Lungenfunktionsparametern.

In den durchgeführten Regressionsanalysen zeigte sich nur für Tau in Kombination mit den Parametern für obstruktive Ventilationsstörungen (FEV1, PEF und MEF75%) ein signifikantes Modell ( $p=0,05$ ). Von den einzelnen Parametern zeigte jedoch keiner einen signifikanten Regressionskoeffizienten.

#### 4.5.3 Beeinflusst die Lungenfunktion den LiMAx?

Auf Basis der Überlegungen, dass der LiMAx als  $^{13}\text{C}$ -Atemtest abhängig von der reibungslosen Abatmung von  $^{13}\text{CO}_2$  ist, soll im folgenden Abschnitt untersucht werden, ob die Lungenfunktion einen Einfluss auf den LiMAx-Test hat.

In einer primär durchgeführten Korrelationsanalyse zeigte sich ein signifikanter linearer Zusammenhang zwischen dem LiMAx und dem thorakalen Gasvolumen in Ist/Soll in Prozent (TGV Ist/Soll in %,  $,365$ ,  $p=0,029$ ), aber zu keinem der anderen Lungenfunktionsparameter. Für den maximalen DOB-Wert stellte sich eine signifikante Korrelation zum thorakalen Gasvolumen in Litern dar ( $-.377$ ,  $p=0,024$ ).

Um zu überprüfen, ob ein gerichteter Zusammenhang vorliegt, wurde daraufhin eine einfache Regressionsanalyse mit dem LiMAx-Test als abhängige Variable durchgeführt. Hier zeigte sich für keinen der Lungenfunktionsparameter ein signifikantes Modell.

Für den LiMAx-Test nach dem Bikarbonat-Protokoll zeigte sich ebenfalls eine signifikante Korrelation mit TGV (Ist/Soll %,  $-,359$ ,  $p=0,031$ ), jedoch mit keinem anderen Lungenfunktionsparameter. Für den maximalen DOB-Wert zeigte sich ebenfalls nur eine Korrelation mit dem TGV in Litern (Korrelationskoeffizient  $,371$ ,  $p = 0,026$ ).

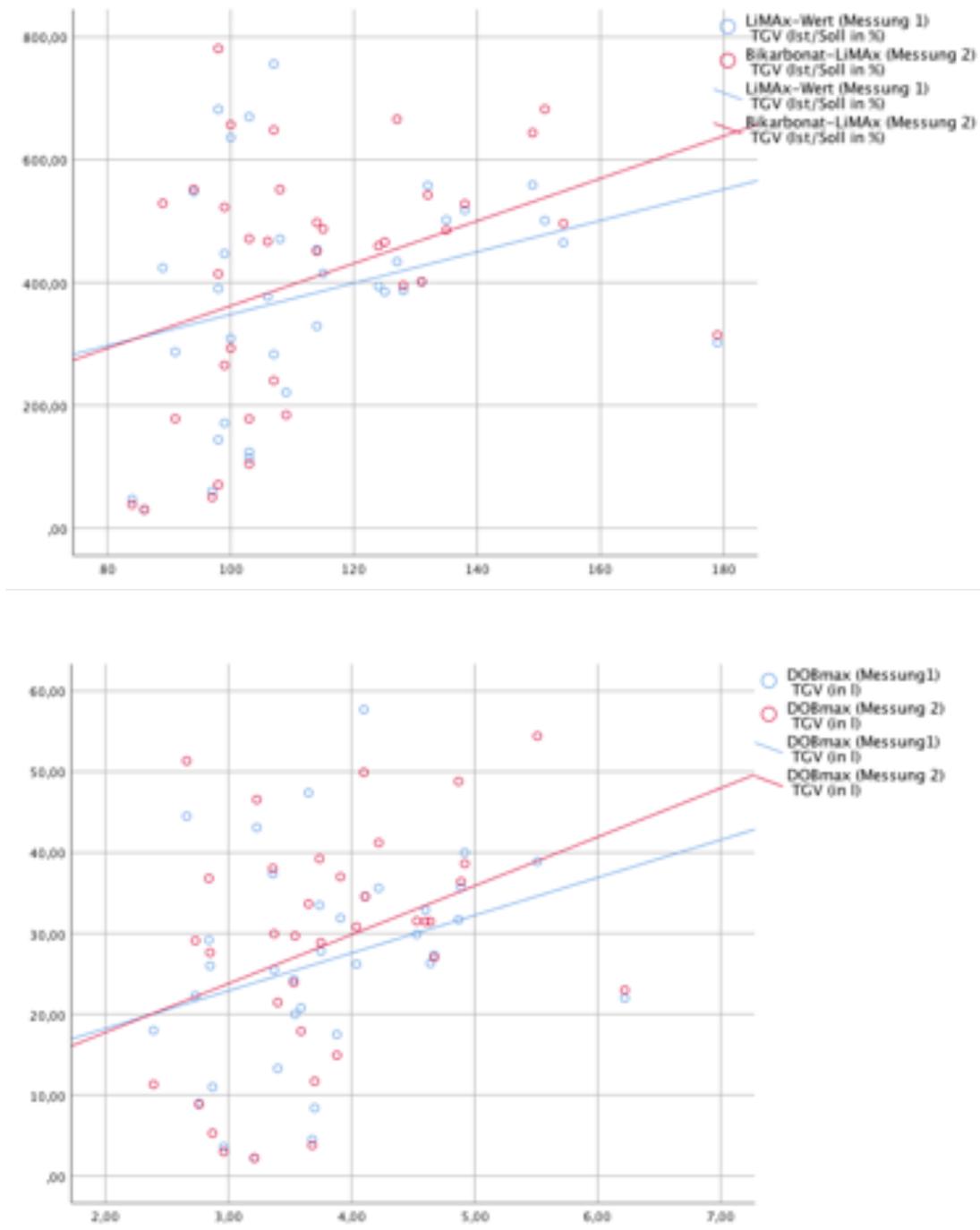


Abbildung 34: Scatterplot zur Darstellung des LiMAX-Wertes bzw. Bikarbonat-LiMAX-Wertes sowie der entsprechenden  $DOB_{max}$  in Bezug auf das thorakale Gasvolumen

Eine Einteilung der Studienpopulation in verschiedene Gruppen entweder als Patienten oder Probanden oder auf der Basis Lungenfunktion führte zu keinem anderen Ergebnis.

Es erfolgte zusätzlich eine Einteilung in Gruppen entsprechend der LiMAX-Höhe, um zu überprüfen, ob die Patienten mit einem erniedrigten LiMAX zusätzlich eine eingeschränkte

Lungenfunktion und somit evtl. eine eingeschränkte Kohlenstoffdioxidabatemung aufwiesen, die die Höhe des LiMAx beeinflussen könnte. Ein Vergleich der Lungenfunktionswerte zwischen den Gruppen zeigte jedoch, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich ihrer Lungenfunktion bestand.

In unserer Studienpopulation konnte somit keine signifikante Beeinflussung des Ergebnisses des LiMAx-Tests durch die Lungenfunktion festgestellt werden.

## 5. Diskussion

Lebererkrankungen spielen in unserer Gesellschaft weiterhin eine bedeutende Rolle (69). Ungefähr 29 Millionen Menschen in Europa leiden an einer chronischen Lebererkrankung (70). 2010 starben über eine Millionen Menschen weltweit an den Folgen einer Leberzirrhose, ungefähr 170.000 davon in Europa und ungefähr eine weitere Million Menschen an den Folgen von bösartigen Neubildungen der Leber und an akuter Hepatitis (70, 71). 2016 wurden in Deutschland 62066 Menschen vollstationär aufgrund der Folgen chronischer Lebererkrankungen durch Alkoholkonsum behandelt (72). Eine große Herausforderung stellt jedoch die frühzeitige Diagnostik von Lebererkrankungen dar, da die meisten Patienten aufgrund der großen Reservekapazität der Leber erst Symptome oder Zeichen einer Lebererkrankung zeigen, wenn diese bereits weit fortgeschritten ist. Die Patienten bereits in einem frühen Stadium zu identifizieren und dadurch ein Fortschreiten der Erkrankung durch spezielle pharmakologische Therapie oder Lebensstiländerung zu verhindern, ist somit entscheidend (41, 70, 71). Für den LiMAX-Test konnte dabei bereits mehrfach gezeigt werden, dass eine Unterscheidung zwischen gesunden und zirrhotischen Organen möglich ist (38, 73, 74) und dass der Test ein Indikator für eine Verschlechterung der Funktion mit der Notwendigkeit einer Intensivierung der Überwachung und Therapie sein kann (75). Eine Weiterentwicklung und ein besseres Verständnis der bestehenden diagnostischen Methoden für chronische Lebererkrankung ist von großer Bedeutung, da die Interpretation von statischen, laborchemischen Leberparametern für die Diagnostik und Überwachung von chronischen Lebererkrankungen nicht ausreichend ist (76).

### 5.1 Hintergrund der Studie

Die von uns durchgeführte Studie hatte es zum Ziel, als Pilot Studie das von Holzhütter, HG et al. (42) vorgeschlagene Prinzip des 2-DOB-LiMAX mit vorheriger Bikarbonatgabe im klinischen Setting anzuwenden, klinische Daten für dieses Prinzip zu generieren und dadurch insbesondere die dem LiMAX zugrundeliegende Bikarbonatkinetik und deren Einfluss auf das Testergebnis individuell zu untersuchen, um eine Verbesserung der Testgenauigkeit für den klinischen Alltag und die zu untersuchenden Patienten zu ermöglichen. Für die Durchführung der Untersuchungen stand dabei das standardmäßig verwendet FLIP®-Gerät der Firma Humedics zur Verfügung, mit dem maximal eine CO<sub>2</sub>-Abatemungskurve von 60 Minuten vor und 60 Minuten nach Methacetin-Gabe gemessen werden kann.

## 5.2 Limitationen der Studie

### 5.2.1 Patientenkollektiv

An der Charité gehört die Durchführung einer LiMAX-Untersuchung zu den Routineuntersuchungen sowohl für Patienten, bei denen große Leberteileresektionen wie zum Beispiel eine Hemihepatektomie oder Trisektorektomie geplant sind, als auch im Rahmen einer Lebertransplantationsevaluation. Es werden somit schwer lebererkrankte Patienten mit stark eingeschränkter Leberfunktion, aber auch Patienten mit kolorektalen Lebermetasten ohne zugrundeliegende strukturelle Lebererkrankung mit Hilfe des LiMAX in der Routinediagnostik untersucht. Dies bot uns ein potentiell großes, aber auch sehr heterogenes Patientenkollektiv für unsere Studie.

Die Patientenrekrutierung wurde insbesondere durch die problematische Integration der Durchführung der zweiten LiMAX-Untersuchung nach dem Bikarbonat-Studienprotokoll und der Lungenfunktions-Untersuchung in den engen Zeitplan der Patienten erschwert.

Das Studienprotokoll erforderte als zeitlichen Abstand zwischen den LiMAX-Untersuchungen eine Zeitdauer von mindestens 24 Stunden, um eine vollständige Methacetin-Metabolisierung und  $^{13}\text{CO}_2$ -Abatmung zu garantieren. Chirurgische Patienten konnten deshalb in der Regel nur eingeschlossen werden, wenn die Routine LiMAX-Untersuchung als prästationäre Untersuchung durchgeführt wurde und die Patientenaufnahme am Tag vor der Operation erfolgte, sodass an diesem Tag noch die zweite LiMAX-Untersuchung stattfinden konnte. Die Durchführung einer Lungenfunktionsuntersuchung war organisatorisch in dieser Patientengruppe meist nicht möglich.

Aus diesem Grund schlossen wir insbesondere gastroenterologische Patienten ein, die zur Lebertransplantationsevaluation aufgenommen wurden, da diese regulär für eine Woche oder länger stationär verblieben und standardmäßig eine Lungenfunktionsuntersuchung angedacht war, sodass sie diese nicht gesondert für die Studie erhalten mussten.

Aufgrund der begrenzten Anzahl an Lebertransplantationsevaluationen und der eingeschränkten Rekrutierungsmöglichkeit von chirurgischen Patienten reduzierte sich die Anzahl der potentiell in Frage kommenden Patienten für unsere Studie deutlich, sodass das Patientenkollektiv mit 26 auswertbaren Patienten klein war.

### 5.2.1.1 Heterogenität und Repräsentativität des Patientenkollektivs

Die sehr allgemein gehaltenen Ein- und Ausschlusskriterien sowie die große Erkrankungsbreite, bei der der LiMAX-Test in der Routinediagnostik eingesetzt wird, führten zu einer hohen Heterogenität des eingeschlossenen Patientenkollektivs. Abbildung 8 im Ergebnisteil zeigt als gruppiertes Balkendiagramm alle Patienten und deren Lebererkrankungen, die im Rahmen der gesamten Studie für alle Studienfragen rekrutiert wurden. Dabei zeigt sich, dass im ausgewerteten Patientenkollektiv keine Patienten mit Adenom und keine Patienten mit einer nicht-alkoholischen Steatohepatitis berücksichtigt wurden. Die Anzahl an Patienten mit einem HCC ohne Zirrhose ist deutlich geringer. Alle anderen Erkrankungen werden in den ausgewerteten Patienten jedoch berücksichtigt. Eine Fokussierung auf eine spezielle Lebererkrankung erfolgte nicht.

Das Patientenkollektiv spiegelt somit verschiedene Lebererkrankungen wieder und repräsentiert die Erkrankungsbreite bei den mit einem LiMAX-Test untersuchten Patienten, was für die Durchführung einer Pilot-Studie zur Überprüfung des Modells von Holzhütter, HG et al. (42) und der Darstellung der Bikarbonatkinetik bei Patienten mit möglichst unterschiedlichen Erkrankungen unser Ziel war. Dadurch wurden sowohl Patientin mit sehr schlechter Leberfunktion als auch Patienten mit grenzwertiger Leberfunktion berücksichtigt, was eine Evaluation der Kinetikdaten bei sehr verschiedenen LiMAX-Werten zuließ.

Eine Folgestudie mit homogenerem Patientenkollektiv, z.B. ausschließlich mit Zirrhosepatienten, um die Power einer potentiellen nachfolgenden Studie zu erhöhen und damit geringere Unterschiede, die aufgrund der Heterogenität und der kleinen Fallzahl für die einzelnen Erkrankungen in der statistischen Analyse nicht zur Darstellung kommen, auflösen zu können, ist sinnvoll.

Die in unsere Studie eingeschlossenen Patienten zeigten in der Auswertung einen Median für den LiMAX, der oberhalb des von Stockmann, M et al. (37) etablierten Normwertes von 315  $\mu\text{g}/\text{kgKG}/\text{h}$  liegt. Aus der Abbildung 10 im Ergebnisteil wird ersichtlich, dass vor allem die Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen und einem HCC ohne zugrundeliegende Zirrhose einen LiMAX-Mittelwert über 400  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  auswiesen, wodurch der Mittelwert der Gruppe „Patienten“ erhöht wird. Betrachtet man nur die Patienten mit nachgewiesener Zirrhose, so weisen diese einen deutlich erniedrigten LiMAX auf. 15 Patienten zeigten dabei einen normwertigen LiMAX-Wert, 5 zeigten einen erniedrigten LiMAX-Wert zwischen 150 und 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  und nur 6 einen deutlich erniedrigten LiMAX-Wert von unter 150  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ . Der niedrigste LiMAX-Wert lag bei 30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ . Der durchschnittliche MELD-Score der Patienten lag

bei 9 Punkten. Ein Wert vergleichbar mit anderen Publikationen, insbesondere da nicht ausschließlich Patienten, die zur Leistungsevaluation für eine Lebertransplantation aufgenommen worden waren, untersucht wurden (68). Studien, die vorwiegend Zirrhosepatienten vor oder nach Lebertransplantation untersucht haben, zeigten höhere durchschnittliche MELD-Werte und deutlich niedrigere LiMAX-Werte (35, 74).

Dennoch ist das Patientenkollektiv in Schwere und Ausprägung der Lebererkrankung im Vergleich zu anderen Studien mit dem LiMAX-Test als eher gering zu beurteilen.

Eine durchgeführte Subgruppenanalyse, in der die Studienteilnehmer entsprechend ihrer mit Hilfe des LiMAX bestimmten Leberfunktion eingeteilt und ausgewertet wurden, zeigte jedoch keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Bikarbonatkinetikdaten oder der Lungenfunktion, sodass man davon ausgehen kann, dass die Patientengruppe unserer Studie trotzdem valide Ergebnisse erbracht hat, auch wenn die Fallzahlen der durchgeführten Subgruppenanalysen sehr gering waren.

#### 5.2.1.2 Altersverteilung im Patientenkollektiv

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte im persönlichen Umfeld der beiden an der Studie beteiligten Doktoranden.

Die Rekrutierung eines Probanden- und Patientenkollektivs mit homogener Verteilung des Alters gestaltete sich im Verlauf sehr schwierig, sodass der Altersdurchschnitt der Probanden deutlich unter dem der Patienten liegt.

Auch wenn in verschiedenen Studien gezeigt wurde, dass die Leberfunktion mit dem Alter abnimmt (77, 78), konnten bereits einige Autoren zeigen, dass das Alter keinen Einfluss auf das Ergebnis des LiMAX hat und somit eine Altersinkohärenz zwischen den Gruppen eine untergeordnete Rolle spielt. So konnten Stockmann et al. keine Korrelation zwischen LiMAX und Alter zeigen (34). Rubin, TM et al. konnten bei der Auswertung von über 10.000 LiMAX-Test ebenfalls keinen signifikanten Einfluss des Alters auf die Kinetik und das Ergebnis des LiMAX identifizieren (39). In einer weiteren klinischen Studie von Lodewick, TM et al. wurden die LiMAX Ergebnisse von Patienten unter 60 und über 70 miteinander verglichen, dabei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (79). Diese Studien liefern Evidenz dafür, dass der Altersunterschied der von uns verglichenen Gruppen zumindest für die Interpretation des LiMAX-Tests vernachlässigbar zu sein scheint.

Auch in der hier vorgestellten Studie konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des LiMAX-Wertes zwischen den Altersgruppen  $\leq 50$  Jahre und  $> 50$  Jahre festgestellt werden. Der

Median des LiMAx-Wertes für die Gruppe über 50 Jahre lag bei 394,00µg/kg/h (287,0-465,0µg/kg/h), für die Gruppe unter/gleich 50 Jahre bei 409,50µg/kg/h (308,75-536,50µg/kg/h, p = 0,576).

### 5.2.2 LiMAx

Der LiMAx-Test stellt einen neuartigen und innovativen Test zur Erfassung der quantitativen Leberfunktion, repräsentiert durch CYP1A2, dar und wird seit einigen Jahren an der Charité Berlin routinemäßig eingesetzt. Der LiMAx-Test als unkomplizierter und für den Patienten wenig belastender Bedside-Test ermöglicht es, die Leberfunktion in Echtzeit zu erfassen und darzustellen. Bereits der Kurvenverlauf der CO<sub>2</sub>-Abatemungskurve gibt Hinweise auf die aktuelle Leberfunktion (39).

Die Überlegenheit gegenüber anderen quantitativen Leberfunktionstests konnte bereits in mehreren klinischen Studien gezeigt werden (37, 80-82), auch die prognostische Wertigkeit des LiMAx konnte dargestellt werden (35, 65), trotzdem konnten sich der LiMAx und andere <sup>13</sup>C-Atemtests bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht als diagnostische Standardmethode in der klinischen Anwendung durchsetzen (83), wobei die Methacetin-Atemtests (MBT) inzwischen die am besten untersuchtesten und am häufigsten genutzten Atemtests in der nicht-invasiven Leberfunktionsdiagnostik darstellen (84).

Es bestehen weiterhin offene Fragen hinsichtlich der besten und effektivsten Auswertung der Abatemungskurve (39, 83), aber auch hinsichtlich der beeinflussenden Parameter wie hemmende oder induzierende Faktoren von CYP1A2 oder des Bikarbonatstoffwechsels (84).

#### 5.2.2.1 Mögliche Einflussfaktoren auf den LiMAx-Test und offene Fragen

Die Einflussfaktoren auf MBT werden viel diskutiert (39, 84). Der Applikationsweg der Testsubstanz, die Einnahme von Medikamenten, Rauchen, das Alter, genetische Variationen des CytochromP450-Systems und die Leberdurchblutung werden unter anderem als Einflussfaktoren beschrieben.

Bei oraler Gabe der Testsubstanzen zeigte sich eine schlechtere Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu invasiven Test durch die interindividuellen Unterschiede im Bereich der gastrointestinalen Absorption und dem Transport zur Leber als Zielorgan. Die Aufnahme der Substrate wird dabei auch durch die Einnahme bestimmter Medikamente, wie zum Beispiel

Protonenpumpeninhibitoren oder orale Antidiabetika, sowie durch die vorhergehende Nahrungsaufnahme beeinflusst. Eine intravenöse Gabe ermöglicht es diese Einschränkungen zu umgehen und verkürzt die Dauer des Tests, bedeutet aber eine unangenehmere Applikation der Testsubstanz für den Patienten.

Lebensstilfaktoren, vor allem Nikotinkonsum und die Einnahme von Kontrazeptiva, haben ebenfalls einen beschriebenen Einfluss auf CYP1A2 (85, 86) und somit auf das Testergebnis. Chung, W. G. et al. konnten in vivo eine Induktion des Enzyms CYP1A2 durch Nikotinkonsum zeigen (87). Im Rahmen einer Auswertung von über 10.000 LiMAX-Tests durch Rubin, T. M. et al. konnte jedoch keine allgemeine, signifikante Erhöhung der LiMAX-Ergebnisse durch Nikotinkonsum bestätigt werden (39), sodass der Einfluss von Rauchen auf das Testergebnis weiterhin vielfältigen Diskussionen unterliegt.

Im Rahmen unserer Studie war die Geschlechterverteilung bei Probanden und Patienten ausgeglichen, allerdings waren unter den Patienten deutlich mehr aktive Raucher als unter den gesunden Probanden. Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des LiMAX-Wertes zwischen aktiven, ehemaligen und Nicht-Rauchern konnte jedoch nicht festgestellt werden ( $p = 0,844$ ). Ein Einfluss des Rauchens auf das Ergebnis des LiMAX-Tests lässt sich mit Hilfe unserer Daten aufgrund der geringen Anzahl aktiver Raucher im unserem Patientenkollektiv nicht eruieren.

Die Folgen von Lungenerkrankungen, wie zum Beispiel COPD als obstruktive Lungenerkrankung mit einer nicht reversiblen Atemflussbehinderung und dadurch eingeschränkter Abatmung von  $\text{CO}_2$  und der Ausbildung einer dauerhaften Hyperkapnie im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf mit Regulationsstörungen des Säure-Base-Haushaltes, wurden bisher nicht in Studien näher untersucht, sodass deren Einfluss auf das Testergebnis zurzeit noch unklar ist. Bei steigender Prävalenz der Erkrankung, zurzeit sind schätzungsweise 13% der deutschen Bevölkerung betroffen, nimmt die Bedeutung auch im Rahmen der Diagnostik anderer Erkrankungen jedoch immer mehr zu (58).

Eine weitere offene Frage stellt auch der metabolische Weg von der Umsetzung des Substrats hin zur Abatmung von  $^{13}\text{CO}_2$  als Endprodukt dar. Die Transportform von  $\text{CO}_2$  im menschlichen Körper ist Bikarbonat, der Einfluss der Bikarbonatkinetik auf die Validität des Testergebnisses wurde bisher jedoch noch nicht in klinischen Studien untersucht, sodass gegenwärtig noch unklar ist, ob ein Einfluss der individuellen Bikarbonatverteilung auf das Ergebnis und die Validität der Auswertung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests besteht.

### 5.2.2.2 Wiederholungsgenauigkeit des LiMAX-Tests

Für den LiMAX und Methacetin-Atemtests im Allgemeinen konnten bisher gute Daten für die Wiederholungsgenauigkeit publiziert werden, sodass von einer Vergleichbarkeit des LiMAX nach dem Standardprotokoll mit dem LiMAX nach dem Bikarbonat-Studienprotokoll in dieser Hinsicht ausgegangen werden kann. So konnten Jara, M et al. eine sehr gute Reproduzierbarkeit des LiMAX bei gesunden Probanden sowie bei gesunden Personen, die sich einer extraabdominellen Operation unterzogen haben, zeigen (38). In einer klinischen Studie zur Reproduzierbarkeit von MBT mit oraler Gabe von Methacetin konnten Kasicka-Jonderko, A et al. ebenfalls eine gute Wiederholungsgenauigkeit zeigen, wobei sich bei wiederholten Untersuchungen im Abstand von ungefähr zwei bis drei Wochen eine geringe Stimulation von CYP1A2 zeigte. Die Signifikanz dieses Phänomens konnte jedoch nicht reproduziert und validiert werden (84, 88).

Im Rahmen unserer Daten zeigte sich zwar eine deutlich schlechtere Wiederholungsgenauigkeit für die Patienten mit erniedrigtem LiMAX zwischen 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  und 150 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  in unserer Studie, woraus sich eventuell die Hypothese ableiten ließe, dass der LiMAX bei schlechter Leberfunktion eine höhere Varianz hat. Allerdings war die Fallzahl in dieser Gruppe mit 5 Patienten sehr gering, sodass sich keine genauen Aussagen diesbezüglich treffen lassen. Eine Folge-Studie mit größerer Fallzahl und insbesondere einem vermehrten Einschluss von Patienten mit deutlich reduzierter Leberfunktion und LiMAX-Werten unter 315  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  wäre notwendig.

### 5.3 Bikarbonatmessungen

Die Berechnung des LiMAX-Wertes beruht auf der Auswertung der  $\text{CO}_2$ -Abatemungskurve nach Methacetin-Gabe und der Bestimmung des maximalen DOB-Wertes innerhalb eines Messzeitraums von maximal 60 Minuten. Das beim metabolischen Abbau von Methacetin in der Leber produzierte Kohlenstoffdioxid wird dabei jedoch nicht gasförmig zur Lunge transportiert, sondern in Form von Bikarbonat. Wir stellten die Hypothese auf, dass der Transport eine bedeutende Rolle für die Auswertung und dadurch einen Einfluss auf das Ergebnis des LiMAX-Tests hat.

Die Regeneration von Kohlenstoffdioxid in der Ausatemluft erfolgt sowohl nach oraler als auch nach intravenöser Gabe von markiertem Bikarbonat oder anderen Kohlenstoffhaltigen Substanzen wie bereits eingangs beschrieben eingeschränkt (45, 48, 49, 54, 55, 57), eine vollständige Abatmung in Form von Kohlenstoffdioxid erfolgt nicht. Die Verluste sind vielfältig

und nicht vollständig geklärt, was die Überprüfung unserer Hypothese mit unseren klinisch orientierten Möglichkeiten einschränkt.

Im Rahmen unserer Studie wurde die individuelle Bikarbonatkinetik und das Kohlenstoffdioxidatmungsprofil nach Bikarbonatgabe bei gesunden Probanden und lebererkrankten Patienten untersucht, um den Einfluss dieser auf den LiMAX und seine Auswertung zu evaluieren. Die Gabe der Testsubstanz erfolgte in unserem Studienprotokoll intravenös, die Testdurchführung war dadurch Zeit effizienter möglich und die Magendarmpassage mit ihren individuellen Unterschieden konnte umgangen werden (34). Es konnte allerdings bereits gezeigt werden, dass die Regeneration von Kohlenstoffdioxid in der Ausatmung nicht signifikant unterschiedlich war zwischen oraler und intravenöser Gabe von markiertem Bikarbonat (54).

Zu Bedenken und als deutliche Einschränkung der von uns verwendeten Methodik zu betrachten ist allerdings, dass eine Kalkulation des körpereigenen Bikarbonatpools mit Hilfe des Kohlenstoffdioxidatmungsprofils nach intravenöser Bikarbonatgabe nicht möglich ist. Der Austausch zwischen dem gegebenen Kohlenstoffdioxid und dem Körpereigenen erfolgt nicht schnell genug, um mit dieser Methodik valide Ergebnisse zu erzielen (89).

### 5.3.1 Einschränkungen bei der Durchführung und Auswertung der reinen Messdaten

Die Durchführung der Bikarbonatmessungen erfolgte ebenfalls mit dem FLIP® der Firma Humedics (Berlin, Deutschland). Die Auswertung erfolgte im Anschluss Software-gestützt (Excel, Matlab), eine Auswertung direkt am FLIP® wie beim LiMAX-Test war aufgrund der digitalen Anzeigen und der Komplexität der Auswertung nicht möglich.

Die uns aus technischen Gründen zugänglichen Messdaten hatten eine Auflösung von 25sec, obwohl das Gerät eine wesentlich bessere Auflösung der Daten aufzeichnet. Dies schränkt die Auswertung des maximalen DOB Wertes nach Bikarbonatgabe deutlich ein. Eine genaue Bestimmung war uns aus diesem Grund nicht möglich, da immer die Möglichkeit bestand, dass der eigentliche höchste Punkt innerhalb der nicht dargestellten 25s zwischen zwei DOB-Werten lag. Insbesondere innerhalb der ersten 3 Minuten nach Bikarbonatgabe waren große Unterschiede zwischen den absoluten Werten der aufgezeichneten DOB-Werte zu beobachten, sodass ein weiterer Anstieg zwischen dem aufgezeichneten maximalen DOB-Wert und dem ersten wieder abfallenden DOB-Wert nicht ausgeschlossen werden konnte. Aufgrund dieser Ungenauigkeit erfolgte keine statistische Auswertung des DOBmax nach Bikarbonatgabe und

keine Beschreibung im Rahmen des Ergebnisteils, auch wenn dieser Wert für die Auswertung der Bikarbonatkinetik und die Regeneration des Bikarbonats in Form von Kohlenstoffdioxid in der Ausatemluft sowie deren Geschwindigkeit von Interesse gewesen wäre.

Dadurch wurde auch die Berechnung der von uns ausgewählten Kinetikparameter in ihrer Genauigkeit beeinflusst, was jedoch für alle Studienteilnehmer gleichermaßen gilt. Insbesondere die Steigungs- bzw. Geschwindigkeitsparameter wie der Parameter Tau waren betroffen, da diese vom absoluten Wert des maximalen DOB-Wertes abhängig sind. Aus diesem Grund wurde als zweiter Parameter für den Abfall der Kurve im langsamer abfallenden Bereich der Kurve die Steigung des exponentiellen Fits betrachtet, um die Abhängigkeit vom maximalen DOB-Wert zu reduzieren. Beide Parameter zeigten jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten und Probanden ( $p = 0,492$  und  $0,358$ ). Für Tau zeigte sich ein Zusammenhang mit Größe, Gewicht und Körperoberfläche sowie mit den Lungenfunktionsparametern RV und PEF, während die Steigung des exponentiellen Fits auch eine lineare Korrelation zu einigen laborchemischen Leberfunktionsparametern zeigte.

### 5.3.2 Einschränkungen bei der Auswertung der Messdaten hinsichtlich potentieller Einflussfaktoren

Im Rahmen der Studie sollte auf der einen Seite die individuelle Bikarbonatkinetik sowie ihre beeinflussenden Faktoren untersucht werden und auf der anderen Seite der Einfluss der Bikarbonatkinetik auf den LiMAX betrachtet werden.

Für das Bikarbonat-Kohlenstoff-System spielt neben der Leber und der Lunge vor allem die Niere eine große Rolle. Das Zusammenspiel dieser drei Organe regelt zum Großteil den Säure-Basen-Status und somit auch das Bikarbonat-Kohlensäure-Puffersystem, als bedeutendstes Puffersystem des menschlichen Körpers. Die Leber dient dabei neben der Niere als Säure-Base-Regulator. Während die Niere vor allem durch die Regulation der absoluten und relativen Ausscheidung von pH-aktiven Substanzen den pH-Wert im Blut beeinflusst, ist die Leber vor allem durch die Produktion von Säuren und Basen, wobei der Bikarbonatproduktion eine besondere Bedeutung zukommt, sowie die Metabolisierung dieser zu pH-neutralen Stoffwechselprodukten an der Regulation beteiligt (90-92). Sowohl alkalisierende als auch azidotisierende Substanzen können im Rahmen einer Leberinsuffizienz anfallen und so das Kohlenstoff-Bikarbonat-Puffersystem beeinflussen. Die Auswirkung dieser Beeinflussung des pH-Wertes auf das Bikarbonat als Transportmetabolit im Rahmen des LiMAX-Tests sowie auf dessen Ergebnis ist unklar.

Im Rahmen von Lebererkrankungen und der daraus resultierenden Funktionseinschränkung des für den Stoffwechsel wichtigen Organs kommt es zu diversen Eingriffen in die pH-Wert-Regulierung.

Die Leber dient darüber hinaus als Harnstoff- und Kreatininproduzent, aus diesem Grund fallen laborchemisch oft falsch niedrige Kreatinin-Werte bei Leberinsuffizienz und eingeschränkter Synthesekapazität auf, sodass die Nierenfunktion, insbesondere mitbedingt durch den blinden Bereich der Kreatininkurve (93, 94), trotz abnehmender Filtrationsleistung als falsch normal eingeschätzt wird. Für die Harnstoffproduktion wird außerdem eine gleiche große Menge Bikarbonat verbraucht, wodurch die Leber in den Bikarbonathaushalt eingreift, der Effekt auf Säure-Basen-Status und somit den effektiven Bikarbonatpool im Blut scheint allerdings eher klein zu sein.

Zusätzlich metabolisiert die Leber bis zu 70% des im Körper anfallenden Laktats, das im Falle einer Leberinsuffizienz oder eines stark erhöhten Anfallens eine metabolische Azidose auslösen kann.

Typisch ist außerdem eine Hyperventilation der Patienten im Rahmen einer Leberzirrhose und dadurch bedingt die Beeinflussung des Säure-Basen-Status in Form einer respiratorischen Alkalose mit Hypokapnie (90, 95, 96).

Auf der anderen Seite können verschiedene Stoffwechselveränderungen eine respiratorische oder metabolische Alkalose auslösen. So induzieren eine Hyperammoniämie und eine hepatische Enzephalopathie zentral eine Hyperventilation.

Eine Hypoalbuminämie im Rahmen einer Leberfunktionsstörung führt dagegen zu einer metabolischen Alkalose, was wiederum eine Hypoventilation und eine Retention von Kohlenstoffdioxid auslöst (90, 97). Unabhängig von der Ursache der Azidose oder Alkalose führt eine pH-Wert Veränderung zu einer Verschiebung der Kohlensäure-Bikarbonat-Gleichgewichts und so der Abatmung von Kohlenstoffdioxid als flüchtige chemische Substanz in dieser Gleichung. Dies könnte einen Einfluss auf den LiMAx und auf die von uns dargestellte Bikarbonatdynamik haben, wurde jedoch im Rahmen unserer Studie und der Untersuchung der Bikarbonatkinetik nicht näher beleuchtet.

Häufig ist auch ein gemeinsames Auftreten einer Leber- und Niereninsuffizienz (98-100) in Form eines hepato-renalen-Syndroms.

Der Evaluation des Einflusses der Nierenfunktion auf die Bikarbonatkinetik und das Konzept des Bikarbonat-LiMAx kommt somit eine große Bedeutung zu, um den Einfluss der Bikarbonatdynamik auf den LiMAx beurteilen zu können.

In der untersuchten Studienpopulation hatten die Probanden im Durchschnitt einen Kreatinin-Wert bei der ersten Messung von 0,84 (0,76-0,94), die Patienten zeigten im Durchschnitt ebenfalls einen normwertigen Kreatinin-Wert, der Median lag bei 0,8 (0,7-0,98, laboreigenen Referenzbereich von 0,50-0,90 mg/dl). Die durchschnittliche GFR lag bei den Probanden und bei den Patienten bei 90ml/min (Referenzwert > 90ml/min). Die laborchemischen Parameter gaben somit keinen Hinweis auf eine Nierenerkrankung über den Durchschnitt der Patienten hinweg.

Wie bereits oben dargelegt, können die Kreatinin-Werte bei lebererkrankten Patienten falsch niedrig sein, sodass die Nierenfunktion unter Umständen als fälschlich gut eingeschätzt wird. Aus diesem Grund sind im Ergebnisteil immer Kreatinin-Wert und geschätzte GFR gemeinsam angegeben. Anamnestisch waren jedoch alle Studienteilnehmer bis auf 2 Dialysepatienten nierengesund und hatten keine bekannten strukturellen Nierenvorerkrankungen.

Insgesamt stand für die Evaluation des Einflusses der Nierenfunktion auf den Bikarbonat-LiMAX sowie die Bikarbonatkinetikparameter keine Vergleichsgruppe mit einer deutlich eingeschränkten Nierenfunktion zur Verfügung, sodass die Beurteilbarkeit des Einflusses der Nierenfunktion in unserem Studienkollektiv insgesamt als deutlich eingeschränkt zu beurteilen ist.

Im Rahmen des Studienprotokolls wurden keine Blutgasanalysen durchgeführt, sodass eine Einschätzung des Säuren-Basen-Status in Form des pH-Wertes, des Standard-Bikarbonats sowie des Base-Exzess (BE) der Patienten und Probanden nicht möglich war. Aus diesem Grund fehlen diese Parameter zur Beurteilung des Einflusses der Nierenfunktion auf die Bikarbonatkinetik und zur Beurteilung des Säure-Basen-Status sowie des Bikarbonatstatus der Studienteilnehmer. Dies ist als großer Kritikpunkt am Studiendesign und an der Durchführung zu werten, insbesondere da Kolkhost, FW et al. einen erhöhten pH-Wert in der kapillären Blutentnahme nach der Bikarbonat-Gabe (101) zeigen konnte und wir dies durch die fehlenden Blutgasanalysen nicht für unsere Studienteilnehmer überprüfen sowie eventuelle Einflüsse durch Veränderungen des Standard-Bikarbonats auf den LiMAX nicht analysieren konnten. Eine venöse Blutgasanalyse zur Beurteilung des Standardbikarbonats sowie des pH-Wertes vor und nach Bikarbonatgabe wäre ein sehr guter Parameter für die Bikarbonatkinetik im Rahmen des LiMAX gewesen.

### 5.3.3 Einschränkungen hinsichtlich des Bikarbonatpools

In verschiedenen tierexperimentellen Arbeiten und mit Hilfe von computergestütztem, biophysiolgischem Modeling konnte gezeigt werden, dass nach der Applikation von

markiertem Bikarbonat oder markierten kohlenstoffhaltigen Verbindungen ein Anteil des markierten Kohlenstoffdioxids im Verlauf im Knochen, im Urin in Form von Harnstoff oder in anderen Makromolekülen nachgewiesen werden kann (43, 45, 48) und die vollständige Abatmung über 24 Stunden in Anspruch nimmt. Kornberg, HL et al. zeigten ungefähr nach drei Stunden eine nahezu konstante Abatmung bei der Katze, in Mausversuchen konnte eine 96%ige Abatmung innerhalb von 24 Stunden gezeigt werden, davon wurden 92,8% in der ersten Stunde und 50% innerhalb der ersten 10 Minuten abgeatmet (102). Mit Hilfe des FLIP® als nicht-invasives Messgerät ist jedoch nur eine Messung über maximal 60 Minuten vor und 60 Minuten nach Methacetin-Gabe möglich, sodass eine vollständige Abatmung mit Hilfe des Messgerätes technisch nicht nachverfolgt werden kann. Ein Messaufbau analog der durchgeführten Tierversuche ist aufgrund der Invasivität ethisch nicht möglich. Im Rahmen des Tierversuchs erfolgte dabei eine Kanülierung der Trachea sowie von zwei großen Gefäßen, der Vena jugularis externa und der Femoralarterie, zur Injektion der Testsubstanz sowie der Entnahme von arteriellen Blutproben während der Messung. Zusätzlich erfolgte eine Abklemmung der beiden Ureter, sodass die Harnstoffproduktion an der Blutkonzentration gemessen werden konnte (48). Eine alternative, invasive Messmethode stellt die Knochenpunktion dar, mit deren Hilfe im Verlauf der ersten 24 Stunden nach Applikation der Testsubstanz das im Knochen enthaltende  $^{13}\text{C}$ -Bikarbonat gemessen werden könnte. Dies ist jedoch ebenfalls im Rahmen einer klinischen Studie am Menschen ethisch nicht vertretbar und war somit für uns nicht durchführbar, sodass der Anteil des markierten Kohlenstoffdioxids, der im Verlauf in den Knochen aufgenommen wurde, nicht bestimmbar war. Dies wäre aber notwendig, um den nicht-respiratorischen Verlust genau bemessen zu können und individuelle Unterschiede der Bikarbonatkinetik feststellen zu können.

Zusätzlich scheinen die metabolischen Prozesse im Knochen, der Austausch zwischen dem großen Knochen-Bikarbonatpool und dem aufgenommenen, markierten Bikarbonat, sehr langsam zu sein, sodass der Austausch in einem zumutbaren Zeitintervall für den Patienten und insbesondere auch für den gesunden Probanden nur unvollständig nachvollzogen werden kann (89).

Die Aufnahme von markiertem Kohlenstoffdioxid in Harnstoff-Moleküle könnte mit Hilfe einer 24 Stunden Urinmessung und Blutkonzentrationsmessung sowie anschließender Analyse hinsichtlich  $^{13}\text{C}$ - und  $^{12}\text{C}$ -Harnstoff untersucht werden. Im Rahmen unserer Studie wäre dies allerdings nur bei den Patienten, die für eine LTX Evaluation einen längeren stationären Aufenthalt haben, logistisch gut möglich. Die chirurgischen Patienten hatten in der Regel am

darauffolgenden Tag ihre Operation, die gesunden Probanden kamen ambulant für die beiden Untersuchungstermine.

Eine Aufnahme in Makromoleküle beispielsweise des Zuckerstoffwechsels ist ebenfalls nur invasiv möglich, eine einfache Blutentnahme reicht nicht, um die reale Menge der Makromoleküle erfassen zu können.

Eine umfangreiche Analyse und Messung der Aufnahme des Kohlenstoffdioxids aus den applizierten markierten kohlenstoffhaltigen Substanzen wäre notwendig, um den Einfluss des Bikarbonat-Stoffwechsels auf den LiMAX-Test zu determinieren und einen Vergleich zwischen den Individuen, die einen LiMAX-Test durchlaufen, stellen zu können.

#### 5.4 Lungenfunktionsmessungen

Im Rahmen dieser Studie wurde kein Schwerpunkt auf die Untersuchung von lungenerkrankten Patienten gelegt, da es sich erstmal um eine Pilotuntersuchung zum Zusammenhang zwischen dem LiMAX-Test, der <sup>13</sup>C-Bikarbonatabatmung und der Lungenfunktion handeln sollte. Daraus ergibt sich, dass in dieser Arbeit nur vorläufige Ergebnisse dazu beschrieben und präsentiert werden können.

In einer Anschlussuntersuchung sollen die für diese Studie eingeschlossenen lebererkrankten Patienten und leber- und lungengesunden Probanden als Vergleichsgruppen für eine dritte, lungenerkrankte, aber lebergesunde Patientengruppe dienen. Ziel ist es, Patienten einzuschließen und zu untersuchen, die sich einer Lungenteilresektion unterziehen, um einen intraindividuellen Lungenfunktionsunterschied zwischen dem präoperativen und postoperativen LiMAX-Atemtest untersuchen zu können.

Im Rahmen des Studienprotokolls war eine Lungenfunktionsuntersuchung für jeden Patienten und jeden gesunden Probanden vorgesehen. Aus zeitlichen und organisatorischen Gründen war dies jedoch nicht für alle Studienteilnehmer möglich. Bei zwei gesunden Probanden und insgesamt acht Patienten fehlt die Lungenfunktionsuntersuchung, was das auswertbare Patientenkollektiv für diesen Studienabschnitt reduziert hat.

Für die Patienten, die im Rahmen des stationären Aufenthaltes zur LTX-Evaluation einen LiMAX erhielten und in die Studie eingeschlossen wurden, war bereits vor Studieneinschluss ein Termin zur Durchführung einer Lungenfunktionsuntersuchung vereinbart worden, sodass diese Patienten alle eine Lungenfunktionsuntersuchung bekamen. Die Durchführung einer CO-

Diffusionsmessung gehört bei diesen Patienten jedoch nicht zum hausinternen Standard, sodass diese Untersuchung bei einigen der Lebertransplantationspatienten fehlt. Es erfolgte zwar für jeden Studienpatienten eine gesonderte Anmeldung bei den Kollegen der Klinik für Pulmologie und somit auch eine Anmeldung der gesonderten Diffusionsmessung, eine Durchführung erfolgte jedoch aus zeitlichen und organisatorischen Gründen nicht immer. Da die Kohlenstoffdioxid-Diffusion jedoch erst im Verlauf der Lungenerkrankungen eingeschränkt und kein Patient in unserem Kollektiv eine vorbekannte schwere Lungenerkrankung aufwies, kann das Fehlen der Diffusionsmessungen als vernachlässigbar betrachtet werden.

Für die chirurgisch aufgenommenen Patienten war die Durchführung einer Lungenfunktionsuntersuchung aufgrund des eng gestrickten Zeitplans sowie der begrenzten Verfügbarkeit von Terminen zur Lungenfunktion für unsere Studienpatienten oft organisatorisch nicht möglich. Im Rahmen der präoperativen Aufarbeitung der Patienten gehört eine Lungenfunktionsuntersuchung auch vor größeren Operationen nicht mehr zum Standard. Die deutsche Gesellschaft für Anästhesie und Intensivmedizin empfiehlt keine standardmäßige Durchführung bei Patienten ohne anamnestic Hinweise auf akute pulmonale Symptome (103).

Im Rahmen dieser Studie erfolgte primär der Einschluss lebererkrankter und lungengesunder Patienten sowie lungengesunder Probanden, wobei bei einem gesunden Probanden im Rahmen der Studienuntersuchungen ein Asthma bronchiale diagnostiziert wurde. Für unsere Analysen standen somit primär normale Lungenfunktionsmessungen zur Verfügung, mit Lungenvolumina, die Schwankungen im Rahmen des Normalen abhängig von Geschlecht, Größe, Gewicht und Trainingszustand aufwiesen. Die Evaluation des Einflusses der Lungenfunktion auf das Ergebnis von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests erfordert nach Auswertung unserer Daten jedoch weiterführende Untersuchungen insbesondere mit lungenerkrankten Patienten. Beispielsweise sollte in einer nachfolgenden Studie untersucht werden, ob sich Veränderungen des Kurvenverlaufs und des Ergebnisses vor und nach Lungenteilresektion ergeben, um den intraindividuellen Einfluss der Lungenfunktion definieren zu können. Bei Lungengesunden besteht nach unseren Daten kein Einfluss der Lungenfunktion auf das Ergebnis des LiMAX oder den Kurvenverlauf im Rahmen der Bikarbonatkinetik. Das individuell im Rahmen der Baseline-Messung bestimmte Verhältnis von  $^{12}\text{CO}_2$  und  $^{13}\text{CO}_2$  als Basis des LiMAX scheint eventuell bestehende kleine Unterschiede auszugleichen. Der gezeigte Einfluss der Lungenvolumina auf die Schnelligkeit der Abatmung scheint keinen Einfluss auf das Ergebnis des LiMAX zu haben, da das Maximum davon

unbeeinflusst bleibt. Ein Zusammenhang zeigte sich nur zum Bikarbonat-LiMAx und dem maximalen DOB-Wert, nicht jedoch zum LiMAx und dem maximalen DOB-Wert.

### 5.5 Fazit

Im Rahmen der von uns durchgeführten Studie konnten wir zeigen, dass die vorherige Bikarbonatgabe die Wiederholungsgenauigkeit des LiMAx-Tests nicht beeinflusst, der ICC war bei unseren Patienten sehr gut. Auch zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den erhobenen Parametern der Bikarbonatkinetik zwischen gesunden Probanden und lebererkrankten Patienten sowie eine sehr homogene Bikarbonatabatmung ohne große interindividuelle Unterschiede. Man kann somit das vorläufige Fazit ziehen, dass Lebererkrankungen keine Auswirkungen auf die Bikarbonatverteilung und -abatmung haben.

Die Lungenfunktion eines Patienten scheint keinen Einfluss auf das Ergebnis des LiMAx-Tests zu haben. Da im Rahmen der Baseline-Messung das individuelle  $^{12}\text{CO}_2$  zu  $^{13}\text{CO}_2$  Verhältnis bestimmt wird, scheinen die Lungenvolumina keinen signifikanten Einfluss auf das schlussendliche Testergebnis zu haben. Eine prä- und postinterventionelle LiMAx-Untersuchungen, zum Beispiel nach Lungenteilresektion, wären jedoch eine interessante Ergänzung zu unserer Untersuchung, um die Lungenfunktion und ihren Einfluss detaillierter darstellen zu können.

**6. Literaturverzeichnis**

1. Abdel-Misih SR, Bloomston M. Liver anatomy. *The Surgical clinics of North America*. 2010;90(4):643-53.
2. Pape H-CK, Rainer; Brenner, Bernhard. *Physiologie der Leber in Physiologie*. 7., vollst. überarb. und erw. Aufl. ed. Stuttgart: Thieme; 2014. 1024 p.
3. Candelli M, Cazzato IA, Zocco MA, Nista EC, Fini L, Armuzzi A, Camise V, Santoro M, Miele L, Grieco A, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 13C-breath tests in the study of mitochondrial liver function. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2004;8(1):23-31.
4. Heidelbaugh JJ, Bruderly M. Cirrhosis and chronic liver failure: part I. Diagnosis and evaluation. *American family physician*. 2006;74(5):756-62.
5. Schuppan D, Afdhal NH. Liver cirrhosis. *Lancet (London, England)*. 2008;371(9615):838-51.
6. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2009;49(3):1017-44.
7. Tapper EB, Lok AS. Use of Liver Imaging and Biopsy in Clinical Practice. *The New England journal of medicine*. 2017;377(8):756-68.
8. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *The New England journal of medicine*. 2001;344(7):495-500.
9. Ilan Y. Review article: the assessment of liver function using breath tests. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2007;26(10):1293-302.
10. Crockett SD, Kaltenbach T, Keeffe EB. Do we still need a liver biopsy? Are the serum fibrosis tests ready for prime time? *Clinics in liver disease*. 2006;10(3):513-34, viii.
11. Helmke S, Colmenero J, Everson GT. Noninvasive assessment of liver function. *Current opinion in gastroenterology*. 2015;31(3):199-208.
12. Paik N, Sinn DH, Lee JH, Oh IS, Kim JH, Kang W, Gwak GY, Paik YH, Choi MS, Lee JH, Koh KC, Paik SW. Non-invasive tests for liver disease severity and the hepatocellular carcinoma risk in chronic hepatitis B patients with low-level viremia. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2018;38(1):68-75.
13. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of hepatology*. 2015;63(1):237-64.
14. Hoekstra LT, de Graaf W, Nibourg GA, Heger M, Bennink RJ, Stieger B, van Gulik TM. Physiological and biochemical basis of clinical liver function tests: a review. *Ann Surg*. 2013;257(1):27-36.

15. Stravitz RT, Ilan Y. Potential use of metabolic breath tests to assess liver disease and prognosis: has the time arrived for routine use in the clinic? *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2017;37(3):328-36.
16. Buechter M, Thimm J, Baba HA, Bertram S, Willuweit K, Gerken G, Kahraman A. Liver Maximum Capacity: A Novel Test to Accurately Diagnose Different Stages of Liver Fibrosis. *Digestion*. 2019;100(1):45-54.
17. Braden B, Lembcke B, Caspary WF. Nichtinvasive Funktionsdiagnostik aus der Atemluft mit <sup>13</sup>C-Atemtests. *Dtsch Arztebl International*. 2003;51-52:2276-81.
18. Braden B, Faust D, Sarrazin U, Zeuzem S, Dietrich CF, Caspary WF, Sarrazin C. <sup>13</sup>C-methacetin breath test as liver function test in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2005;21(2):179-85.
19. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, Boutton TW. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. *Lancet (London, England)*. 1987;1(8543):1174-7.
20. Klein PD. <sup>13</sup>C breath tests: visions and realities. *J Nutr*. 2001;131(5):1637S-42S.
21. Miele L, Marrone G, Cefalo C, D'Achille S, Rapaccini GL, Gasbarrini A, Grieco A. Potential use of liver function breath tests in the clinical practice. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2013;17 Suppl 2:82-9.
22. Modak AS. Stable isotope breath tests in clinical medicine: a review. *Journal of breath research*. 2007;1(1):014003.
23. Afolabi P, Wright M, Wootton SA, Jackson AA. Clinical utility of <sup>13</sup>C-liver-function breath tests for assessment of hepatic function. *Dig Dis Sci*. 2013;58(1):33-41.
24. Grattagliano I, Lauterburg BH, Palasciano G, Portincasa P. <sup>13</sup>C-breath tests for clinical investigation of liver mitochondrial function. *European journal of clinical investigation*. 2010;40(9):843-50.
25. Giannini EG, Testa R. <sup>13</sup>C-breath tests and liver fibrosis. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2004;8(1):51-4.
26. Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzhutter 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. *Eur J Med Res*. 2009;14:547-50.
27. Rating D, Langhans CD. Breath tests: concepts, applications and limitations. *European journal of pediatrics*. 1997;156 Suppl 1:S18-23.
28. Musialik J, Jonderko K, Kasicka-Jonderko A, Buschhaus M. (<sup>13</sup>)CO<sub>2</sub> breath tests in non-invasive hepatological diagnosis. *Prz Gastroenterol*. 2015;10(1):1-6.

29. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2008;392(6):1093-108.
30. Schneider A, Caspary WF, Saich R, Dietrich CF, Sarrazin C, Kuker W, Braden B. 13C-methacetin breath test shortened: 2-point-measurements after 15 minutes reliably indicate the presence of liver cirrhosis. *Journal of clinical gastroenterology*. 2007;41(1):33-7.
31. Nista EC, Fini L, Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Cazzato IA, Merra G, Finizio R, Miele L, Grieco A, Gasbarrini G, Gasbarrini A. 13C-breath tests in the study of microsomal liver function. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2004;8(1):33-46.
32. Petrolati A, Festi D, De Berardinis G, Colaiocco-Ferrante L, Di Paolo D, Tisone G, Angelico M. 13C-methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2003;18(8):785-90.
33. Klatt S, Taut C, Mayer D, Adler G, Beckh K. Evaluation of the 13C-methacetin breath test for quantitative liver function testing. *Z Gastroenterol*. 1997;35(8):609-14.
34. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne K, Martus P, Fricke M, Lehmann S, Niehues SM, Schwabe M, Lemke AJ, Neuhaus P. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. *Ann Surg*. 2009;250(1):119-25.
35. Jara M, Malinowski M, Luttgert K, Schott E, Neuhaus P, Stockmann M. Prognostic value of enzymatic liver function for the estimation of short-term survival of liver transplant candidates: a prospective study with the LiMAx test. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2015;28(1):52-8.
36. Jara M, Reese T, Malinowski M, Valle E, Seehofer D, Puhl G, Neuhaus P, Pratschke J, Stockmann M. Reductions in post-hepatectomy liver failure and related mortality after implementation of the LiMAx algorithm in preoperative work-up: a single-centre analysis of 1170 hepatectomies of one or more segments. *HPB (Oxford)*. 2015;17(7):651-8.
37. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The LiMAx test: a new liver function test for predicting postoperative outcome in liver surgery. *HPB (Oxford)*. 2010;12(2):139-46.
38. Jara M, Bednarsch J, Valle E, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, Seehofer D, Jung T, Stockmann M. Reliable assessment of liver function using LiMAx. *J Surg Res*. 2015;193(1):184-9.
39. Rubin TM, Heyne K, Luchterhand A, Bednarsch J, Vondran FW, Polychronidis G, Malinowski M, Nikolic A, Tautenhahn HM, Jara M, Wuensch T, Stockmann M, Lock JF.

Kinetic validation of the LiMAx test during 10,000 intravenous <sup>13</sup>C-methacetin breath tests. *Journal of breath research*. 2017.

40. GmbH H. Prinzip des LiMAx-Tests <http://www.humedics.eu/de/warum-limax.html>: Humedics GmbH; (accessed 19.09.2017, 16:48) [

41. Holzhutter HG, Wuensch T, Gajowski R, Berndt N, Bulik S, Meierhofer D, Stockmann M. A novel variant of the (<sup>13</sup>C)-methacetin liver function breath test that eliminates the confounding effect of individual differences in systemic CO<sub>2</sub> kinetics. *Archives of toxicology*. 2020;94(2):401-15.

42. Holzhutter HG, Lock JF, Taheri P, Bulik S, Goede A, Stockmann M. Assessment of hepatic detoxification activity: proposal of an improved variant of the (<sup>13</sup>c)-methacetin breath test. *PLoS One*. 2013;8(8):e70780.

43. Barstow TJ, Cooper DM, Sobel EM, Landaw EM, Epstein S. Influence of increased metabolic rate on [<sup>13</sup>C]bicarbonate washout kinetics. *Am J Physiol*. 1990;259(1 Pt 2):R163-71.

44. Barstow TJ, Cooper DM, Epstein S, Wasserman K. Changes in breath <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub> consequent to exercise and hypoxia. *J Appl Physiol (1985)*. 1989;66(2):936-42.

45. Irving CS, Wong WW, Shulman RJ, Smith EO, Klein PD. [<sup>13</sup>C]bicarbonate kinetics in humans: intra- vs. interindividual variations. *Am J Physiol*. 1983;245(2):R190-202.

46. Speckmann HR, J. Hescheler, R. Köhling and E. Speckmann. *Physiologie*. München: Elsevier Health Sciences Germany; 2013.

47. Hetenyi G, Jr. Correction for the metabolic exchange of <sup>14</sup>C for <sup>12</sup>C atoms in the pathway of gluconeogenesis in vivo. *Federation proceedings*. 1982;41(1):104-9.

48. Kornberg HL, Davies RE, Wood DR. The metabolism of <sup>14</sup>c-labelled bicarbonate in the cat. *The Biochemical journal*. 1951;49(5):lxxv-lxxvi.

49. Saccomani MP, Bonadonna RC, Cavegion E, DeFronzo RA, Cobelli C. Bicarbonate kinetics in humans: identification and validation of a three-compartment model. *Am J Physiol*. 1995;269(1 Pt 1):E183-92.

50. Steele R. The retention of metabolic radioactive carbonate. *The Biochemical journal*. 1955;60(3):447-53.

51. Shipley RA, Baker N, Incefy GE, Clark RE. C<sup>14</sup> studies in carbohydrate metabolism. IV. Characteristics of bicarbonate pool system in the rat. *Am J Physiol*. 1959;197(1):41-6.

52. Fowle AS, Matthews CM, Campbell EJ. THE RAPID DISTRIBUTION OF <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O AND <sup>11</sup>CO<sub>2</sub> IN THE BODY IN RELATION TO THE IMMEDIATE CARBON DIOXIDE STORAGE CAPACITY. *Clinical science*. 1964;27:51-65.

53. Winchell HS, Stahelin H, Kusubov N, Slinger B, Fish M, Pollycove M, Lawrence JH. Kinetics of CO<sub>2</sub>-HCO<sub>3</sub> minus in normal adult males. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine.* 1970;11(12):711-5.
54. Meineke I, De Mey C, Eggers R, Bauer FE. Evaluation of the <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> kinetics in humans after oral application of sodium bicarbonate as a model for breath testing. *European journal of clinical investigation.* 1993;23(2):91-6.
55. Roecker K, Landaw E, Striegel H, Mayer F, Dickhuth HH. First-pass effect of an intravenous bolus of [<sup>13</sup>C]bicarbonate displayed breath-by-breath. *J Appl Physiol* (1985). 2001;90(6):2181-7.
56. Jara M, Bednarsch J, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, Seehofer D, Stockmann M. [Enhancing safety in liver surgery using a new diagnostic tool for evaluation of actual liver function capacity - The LiMAx test]. *Dtsch Med Wochenschr.* 2014;139(8):387-91.
57. Pallikarakis N, Sphiris N, Lefebvre P. Influence of the bicarbonate pool and on the occurrence of <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> in exhaled air. *European journal of applied physiology and occupational physiology.* 1991;63(3-4):179-83.
58. Herold G. *Innere Medizin : eine vorlesungsorientierte Darstellung, unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung, mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis / Gerd Herold und Mitarbeiter.* Herold G, editor. Köln: Herold; 2017.
59. Jonderko K, Kasicka-Jonderko A, Kaminska M, Blonska-Fajfrowska B. A systematic study of a neutral meal suitable for subjects undergoing <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> breath tests. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research.* 2008;14(10):Cr543-6.
60. Burkhardt R, Pankow W. The diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Deutsches Arzteblatt international.* 2014;111(49):834-45, quiz 46.
61. Rabe KF, Watz H. Chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* (London, England). 2017;389(10082):1931-40.
62. Arasteh K, H.-W. Baenkler, C. Bieber, et. al. *Innere Medizin Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2009.* 331-3 p.
63. Dennis Bösch C-PC. *Lungenfunktionsprüfung.* Heidelberg: Springer-Verlag Berlin; 2013.
64. Berger MM, Gust R. [Perioperative evaluation of lung function]. *Der Anaesthesist.* 2005;54(3):273-86; quiz 87-8.

65. Stockmann M, Vondran FWR, Fahrner R, Tautenhahn HM, Mittler J, Bektas H, Malinowski M, Jara M, Klein I, Lock JF. Randomized clinical trial comparing liver resection with and without perioperative assessment of liver function. *BJS open*. 2018;2(5):301-9.
66. Botta F, Giannini E, Romagnoli P, Fasoli A, Malfatti F, Chiarbonello B, Testa E, Risso D, Colla G, Testa R. MELD scoring system is useful for predicting prognosis in patients with liver cirrhosis and is correlated with residual liver function: a European study. *Gut*. 2003;52(1):134-9.
67. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2000;31(4):864-71.
68. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, D'Amico G, Dickson ER, Kim WR. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md)*. 2001;33(2):464-70.
69. Marcellin P, Kutala BK. Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2018;38 Suppl 1:2-6.
70. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M, Valla DC, Roudot-Thoraval F. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. *Journal of hepatology*. 2013;58(3):593-608.
71. Mokdad AA, Lopez AD, Shahrzad S, Lozano R, Mokdad AH, Stanaway J, Murray CJL, Naghavi M. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Medicine*. 2014;12.
72. Bundesamt S. Diagnosedaten der Patienten und Patientinnen in Krankenhäusern (einschl. Sterbe- und Stundenfälle)  
[https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Krankenhaeuser/DiagnosedatenKrankenhaus2120621167004.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Krankenhaeuser/DiagnosedatenKrankenhaus2120621167004.pdf?__blob=publicationFile) accessed 30.09.2018, 08:39  
[Available from:  
[https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Krankenhaeuser/DiagnosedatenKrankenhaus2120621167004.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Krankenhaeuser/DiagnosedatenKrankenhaus2120621167004.pdf?__blob=publicationFile).
73. Buechter M, Gerken G, Hoyer DP, Bertram S, Theysohn JM, Thodou V, Kahraman A. Liver maximum capacity (LiMAX) test as a helpful prognostic tool in acute liver failure with sepsis: a case report. *BMC anesthesiology*. 2018;18(1):71.

74. Malinowski M, Jara M, Luttgert K, Orr J, Lock JF, Schott E, Stockmann M. Enzymatic liver function capacity correlates with disease severity of patients with liver cirrhosis: a study with the LiMAx test. *Dig Dis Sci*. 2014;59(12):2983-91.
75. Stravitz RT, Reuben A, Mizrahi M, Lalazar G, Brown K, Gordon SC, Ilan Y, Sanyal A. Use of the methacetin breath test to classify the risk of cirrhotic complications and mortality in patients evaluated/listed for liver transplantation. *Journal of hepatology*. 2015;63(6):1345-51.
76. Harris R, Harman DJ, Card TR, Aithal GP, Guha IN. Prevalence of clinically significant liver disease within the general population, as defined by non-invasive markers of liver fibrosis: a systematic review. *The lancet Gastroenterology & hepatology*. 2017;2(4):288-97.
77. Schmucker DL. Age-related changes in liver structure and function: Implications for disease ? *Experimental gerontology*. 2005;40(8-9):650-9.
78. Cieslak KP, Baur O, Verheij J, Bennink RJ, van Gulik TM. Liver function declines with increased age. *HPB (Oxford)*. 2016;18(8):691-6.
79. Lodewick TM, Alizai PH, van Dam RM, Roeth AAJ, Schmeding M, Heidenhain C, Andert A, Gassler N, Dejong CHC, Neumann UP. Effect of Age on Liver Function in Patients Undergoing Partial Hepatectomy. *Digestive surgery*. 2017;34(3):233-40.
80. 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 : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2010;23(10):1023-32.
81. Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Hoppe S, Rohl RI, Niehues SM, Neuhaus P, Stockmann M. Function and volume recovery after partial hepatectomy: influence of preoperative liver function, residual liver volume, and obesity. *Langenbeck's archives of surgery*. 2012;397(8):1297-304.
82. 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 : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2010;16(2):172-80.
83. Kasicka-Jonderko A, Jonderko K. Phase-1 evaluation of <sup>13</sup>C-liver function breath tests. *Dig Dis Sci*. 2013;58(2):579-81.
84. Gorowska-Kowolik K, Chobot A, Kwiecien J. <sup>13</sup>C Methacetin Breath Test for Assessment of Microsomal Liver Function: Methodology and Clinical Application. *Gastroenterology research and practice*. 2017;2017:7397840.

85. Thorn CF, Aklillu E, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP1A2. *Pharmacogenetics and genomics*. 2012;22(1):73-7.
86. Rasmussen BB, Brix TH, Kyvik KO, Broesen K. The interindividual differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. *Pharmacogenetics*. 2002;12(6):473-8.
87. 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. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2000;67(3):258-66.
88. Kasicka-Jonderko A, Nita A, Jonderko K, Kaminska M, Blonska-Fajfrowska B. C-methacetin breath test reproducibility study reveals persistent CYP1A2 stimulation on repeat examinations. *World journal of gastroenterology*. 2011;17(45):4979-86.
89. Almen MC, Drury DR, Wick AN. Rate of elimination of labeled carbon dioxide from the body. *Am J Physiol*. 1956;186(2):361-4.
90. Scheiner B, Lindner G, Reiberger T, Schneeweiss B, Trauner M, Zauner C, Funk GC. Acid-base disorders in liver disease. *Journal of hepatology*. 2017;67(5):1062-73.
91. Haussinger D, Steeb R, Gerok W. Ammonium and bicarbonate homeostasis in chronic liver disease. *Klinische Wochenschrift*. 1990;68(3):175-82.
92. Cohen RD. Roles of the liver and kidney in acid-base regulation and its disorders. *British journal of anaesthesia*. 1991;67(2):154-64.
93. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clinical chemistry*. 1992;38(10):1933-53.
94. Levey AS, Perrone RD, Madias NE. Serum creatinine and renal function. *Annual review of medicine*. 1988;39:465-90.
95. Moreau R, Hadengue A, Soupison T, Mamzer MF, Kirstetter P, Saraux JL, Assous M, Roche-Sicot J, Sicot C. Arterial and mixed venous acid-base status in patients with cirrhosis. Influence of liver failure. *Liver*. 1993;13(1):20-4.
96. Karetzky MS, Mithoefer JC. The cause of hyperventilation and arterial hypoxia in patients with cirrhosis of the liver. *The American journal of the medical sciences*. 1967;254(6):797-804.
97. Funk GC. [Stewart's acid-base approach]. *Wiener klinische Wochenschrift*. 2007;119(13-14):390-403.
98. Betrosian AP, Agarwal B, Douzinas EE. Acute renal dysfunction in liver diseases. *World journal of gastroenterology*. 2007;13(42):5552-9.

99. Gupta K, Rani P, Rohatgi A, Verma M, Handa S, Dalal K, Jain A. Noradrenaline for reverting hepatorenal syndrome: a prospective, observational, single-center study. *Clinical and experimental gastroenterology*. 2018;11:317-24.
100. Heidelbaugh JJ, Sherbondy M. Cirrhosis and chronic liver failure: part II. Complications and treatment. *American family physician*. 2006;74(5):767-76.
101. Kolkhorst FW, Rezende RS, Levy SS, Buono MJ. Effects of sodium bicarbonate on VO<sub>2</sub> kinetics during heavy exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 2004;36(11):1895-9.
102. Skipper HE, White L, Jr., Bryan CE. Body Retention of Carbon 14 from Labeled Sodium Bicarbonate. *Science (New York, NY)*. 1949;110(2856):306-7.
103. Zwissler B. Preoperative evaluation of adult patients before elective, noncardiothoracic surgery : Joint recommendation of the German Society of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, the German Society of Surgery, and the German Society of Internal Medicine. *Der Anaesthesist*. 2017.

## VI Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Julia Charlotte Mohr, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Einfluss der Bikarbonatdynamik und der Lungenfunktion auf die Testergebnisse von <sup>13</sup>C-Atemtests selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **VII Lebenslauf**

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



## VIII Publikationsliste

Julia Mohr hatte eine Beteiligung an folgender Publikation:

Heucke N, Wuensch T, Mohr J, Kaffarnik M, Arsenic R, Sinn B, Muller T, Pratschke J, Stockmann M, Sack I, Tzschatzsch H. Non-invasive structure-function assessment of the liver by 2D time-harmonic elastography and the dynamic Liver MAXimum capacity (LiMAX) test. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2019;34(9):1611-9

## **IX Danksagung**

Ich möchte mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Martin Stockmann für das Ermöglichen dieser Arbeit und für seine Unterstützung bedanken.

Ich möchte mich auch bei allen Mitgliedern der AG Stockmann herzlich bedanken.

Zum anderen möchte ich meinen Freunden und meiner Familie, vor allem meinen Eltern, meinem Onkel und meinem Freund, für die fortwährende Unterstützung in jedem Stadium der Promotion danken, von dem ersten eingeschlossenen Patienten bis zum letzten geschriebenen Wort der Promotionsarbeit. Diese moralische Unterstützung hat mir diese schwierige und anstrengende Zeit leichter gemacht.