

Aus dem Institut/der Klinik für Allgemein, Visceral-
und Transplantationschirurgie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Virchow-Klinikum

DISSERTATION

Leberfunktionstest mittels Atemgasanalyse
sowie mögliche Einflüsse auf die Messergebnisse
am Beispiel des ^{13}C -Methacetin Atemtests / LiMAx-Tests

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Tom Moses Rubin

Datum der Promotion:

25.06.2023

1 INHALT

2	Abstrakt.....	7
3	Abstract (English Version)	8
4	Abkürzungen.....	9
5	Vorwort	9
6	Einleitung.....	11
6.1	Methoden zur Bestimmung der Leberfunktion:	13
6.1.1	ICG-Test (Indocyaningrün).....	13
6.1.2	Der „alte“ Methacetin-Atemtest mit fester Dosis und oraler Verabreichung	14
6.1.3	(Cumulative Recovery) Abgeschätzter, abgeatmeter Anteil der verabreichten Dosis	14
6.1.4	Der LiMax-Test (IV Verabreichung und Körpergewicht-proportionaler Dosis) .	16
6.2	Simulation der DOB-Kinetik beim MBT	21
6.2.1	Dynamiken und Größen der Blutkompartimente	22
6.2.2	Modell zur Simulation der MBT-Kinetik von König et al.....	25
6.2.3	Der 2DOB-Test zur Berücksichtigung der individuellen und aktuellen Bikarbonat-Dynamik	29
6.3	Zusammenfassung der wichtigsten Punkte der Einleitung bezüglich der Fragestellung dieser Arbeit	30
7	Methodik.....	33
7.1	Das FLIP-Gerät (Fast Liver Investigation Package).....	33
7.2	Analyse von 10100 Kinetiken (Messprotokoll und Probandenkollektiv):	35
7.3	Retrospektive Studie der Überwachung Chemotherapie-assoziiertes Leberschädigung mittels LiMax-Test	37
7.4	Einfluss von der Methacetin-Dosis und von übermäßiger Bewegung der Probanden „Dosis-Sport-Studie“	37
7.4.1	Testprotokolle für D1 bis D5.....	37
7.4.2	Probandenkollektiv	38
7.4.3	Verbesserung bezüglich der Auswertung	38
7.5	Erhebung und Analyse von Daten sowie Mittel zur Simulation	39
7.5.1	Verwendete Software, Berechnungsmethoden und Datenformate	39
7.5.2	Fehlerbetrachtung und Unsicherheitsanalyse.....	40
7.5.3	Die in dieser Arbeit verwendete Methoden der Entfaltung und Faltung.....	40
7.6	Ethikkommission	41
8	Ergebnisse und Diskussion	43
8.1	Messgenauigkeit des FLIP-Geräts und Variation der CO ₂ -Konzentration.....	43

8.2	Typische Kurvenformen der DOB-Kinetiken anhand von 10100 Messreihen.....	45
8.2.1	„Standardformen“ der DOB-Kinetiken beim LiMax-Test	45
8.2.2	Dauer bis zum Erreichen des Maximums „T(Max)“	46
8.2.3	Dauer bis zum Erreichen des halben Maximums „T($\frac{1}{2}$ Max)“	46
8.2.4	Einflüsse auf die Testvalidität	47
8.2.5	Zusammenhang von DOB-Maximum und LiMax-Wert.....	47
8.2.6	Vergleich von DOB-Maximum, bzw. LiMax-Wert mit CUM(t).....	48
8.2.7	Einfluss von Alter, Geschlecht, Rauchen, Größe, Gewicht und BMI.....	50
8.2.8	Vergleich des LiMax-Wertes mit MELD- und CTP-Score	50
8.3	Anwendungsbeispiel: Überwachung chemotherapieassoziiertes Leberschädigung	52
8.4	Ergebnisse der Dosis-Sport-Studie.....	54
8.5	Einfacher Fit mit der Summe aus Exponentialfunktionen.....	56
8.6	Interindividuelle Reproduzierbarkeit des MBTs	57
8.7	Betrachtung von Sättigungseffekten bei wiederholter einfacher Dosisgabe	58
8.8	Neuer Ansatz: Entfaltung mit der Umverteilungsdynamik.....	59
8.8.1	Umverteilung in der Blutkompartimenten als dominierender Effekt.....	59
8.8.2	Ergebnisse der Entfaltung der typischen Kinetikverläufe für die sieben Gruppen unterschiedlicher Leberleistung.....	60
8.9	Betrachtung von Sättigungseffekten bei einmaliger X-facher Dosisgabe.....	61
8.9.1	Berechnung des prozentual metabolisierten Anteils der Gesamtdosis.....	64
8.10	Rekursive Bestimmung des Sättigungsparameter bei Verwendung verschiedener Dosen	65
8.10.1	Variationen zur Bestimmung der Parameter des Abklingverhaltens der Methacetinkonzentration im Blut (BMC).....	65
8.10.2	Gruppenabhängige Methacetin-Extraktionsrate in Abhängigkeit vom BMC	66
8.11	Simulation der DOB-Kinetiken mittels Faltung der Metabolisierungsraten und der Umverteilungsdynamik für Blutkompartimente.....	68
9	Interpretation und Einordnung der Ergebnisse.....	71
9.1	Anforderungen and DOB- und Zeitauflösung des Messgerätes	71
9.2	Die <i>Standardformen</i> der LiMax-Kinetik - Retrospektive Studie an 10100 DOB-Kinetiken.....	72
9.3	Dosis-Sport-Studie	73
9.4	Vorschläge für die potenzielle Verbesserung von Simulationsmodellen bezüglich MBTs.....	76
9.5	2DOB-Test und Variation der CO ₂ -Produktion, Herzfrequenz und Abatmung	77
9.6	Bestimmung der zeitaufgelösten Metabolisierungsraten mittels Entfaltung	77

9.7	Sättigung (Metabolisierungsraten entsprechend Methacetinkonzentration im Blut je nach Leberzustand).....	78
9.8	Simulation der DOB-Kinetik aus der Metabolisierungsrate.....	79
9.9	Hypothese zum Unterschied zwischen oraler Verabreichung und IV Verabreichung im Bolus im Zusammenhang mit Sättigungseffekten.....	80
10	Zusammenfassung	81
10.1	Zusammenfassung der Ergebnisse bezüglich Einflussfaktoren.....	83
11	Ausblick	85
12	Literaturverzeichnis.....	87
13	Eidesstattliche Versicherung	91
13.1	Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	92
14	Lebenslauf.....	93
15	Publikationsliste.....	97
16	Danksagung.....	99

2 ABSTRAKT

Die schnelle und valide Bestimmung der Leberfunktion stellt eine lebenswichtige Herausforderung bei der Planung von Leberteilresektionen, der Abschätzung der Notwendigkeit einer Lebertransplantation und der Überwachung des Heilungsprozesses dar. Der LiMAX-Test - ein weiterentwickelter ^{13}C -Methacetin Atemtest (MBT) zur Bestimmung der Leberfunktion direkt am Patientenbett (mit Bolusinjektion der zum Körpergewicht (BW) proportionalen Methacetin-Dosis von 2 mg pro kg BW) - hat sich in zahlreichen klinischen Studien als spezifischer, sensitiver und quantitativer Leberfunktionstest bewährt. Die Abatmungskinetik des in der Leber aus dem Methacetin erzeugten $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses (delta-over-baseline; DOB in ‰) liefert das DOB-Maximum zur Berechnung des LiMAX-Wertes. So konnte, in einer Studie zur Einführung des LiMAX-Tests in die klinische Praxis, bei 329 Patienten mit Lebertumoren zur partiellen Hepatektomie eine Reduktion der Mortalität von 9,4% auf 3,4% ($P = 0,019$) erzielt werden.

Ziel dieser Arbeit ist es, ein möglichst gutes Verständnis dafür zu schaffen, welche medizinisch-biologischen Prozesse einen Einfluss auf das Messergebnis haben. Entsprechend wurden retrospektiv 10100 DOB-Kinetiken in sieben Gruppen unterschiedlicher Leberleistungen eingeteilt und auf ihre Form hin untersucht (mit dem Fokus auf Anstiegszeiten und Peakausbildung). Es wurden sieben klar unterscheidbare „Standardformen“ gefunden, welche im Zweifel zur Validierung der Testergebnisse herangezogen werden können. Von den Größen Geschlecht, Körpergröße, Alter, BMI und Zigarettenkonsum zeigten lediglich Geschlecht und Zigarettenkonsum einen signifikanten Einfluss. Sowohl Männer als auch Rauchende hatten statistisch je einen ausgeprägteren Peak (und ein je nach Gruppe im einstelligen Prozentbereich höheres DOB-Maximum) als Frauen bzw. Nicht-Rauchende.

In einer weiteren Studie wurde der Einfluss von CO_2 -Produktion, Herzrate und Blutzirkulation, künstlich durch die Nutzung eines Ergometers erhöht. Es wurde ein sehr starker Einfluss auf das Testergebnis quantifiziert, was verdeutlicht, dass die Bewegung der Probanden während der Messung entsprechend dem LiMAX-Testprotokoll unbedingt auf ein absolutes Minimum zu reduzieren ist. Ferner wurde die Methacetin-Dosis variiert. Anhand der in dieser Arbeit vorgestellten Bestimmung der zeitabhängigen Metabolisierungsrate aus der DOB-Kinetik mittels Entfaltung mit der Umverteilungsdynamik des Blutes konnte eindeutig belegt werden, dass Sättigungseffekte auch beim Gesunden auftreten und entscheidend dafür sind, dass der Test mit Bolusinjektion so sensitiv und spezifisch ist.

Dieser Sättigungseffekt hat zudem eine Schlüsselrolle für aktuelle Simulationsmodelle.

3 ABSTRACT (ENGLISH VERSION)

Rapid and valid determination of liver function is a vital challenge in planning partial liver resections, estimating the need for liver transplantation, and monitoring the healing process. The LiMAx test, an advanced ^{13}C -methacetin breath test (MBT), for the determination of liver function directly at the patient's bedside, with bolus injection of the methacetin dose proportional to body weight (BW) of 2 mg per kg BW, has been proven in numerous clinical studies to be a specific, sensitive and quantitative liver function test. The exhalation kinetics of the excess $^{13}\text{CO}_2$ generated in the liver from methacetin (delta-over-baseline; DOB in ‰), provides the DOB maximum for calculating the LiMAx value. Thus, in a study to introduce the LiMAx test into clinical practice in 329 patients with liver tumors for partial hepatectomy, a reduction in mortality from 9.4% to 3.4% ($P = 0.019$) was achieved.

The aim of this work is to provide the best possible understanding of which medical-biological processes have an influence on the measurement result. Accordingly, 10100 DOB kinetics were retrospectively divided into seven groups of different liver powers and examined for their shape, focusing on rise times and peak formation. Seven clearly distinguishable "standard shapes" were found, which can be used to validate test results in case of doubt. Of the variables: Gender, height, age, BMI, and cigarette consumption, only gender and cigarette consumption showed a significant influence. Both men and smokers each had a statistically more pronounced peak and, depending on the group, a single-digit percentage higher DOB maximum than women or non-smokers.

In another study, the influence of CO_2 production, heart rate and blood circulation, was artificially increased by the use of an ergometer. A very strong influence on the test result was quantified, which illustrates that the movement of the subjects during the measurement, according to LiMAx test protocol, must absolutely be reduced to a minimum. Furthermore, the methacetin dose was varied. Based on the determination of the time-dependent metabolization rate from DOB kinetics using deconvolution with blood redistribution dynamics presented in this work, it was clearly demonstrated that saturation effects also occur in healthy subjects and are crucial for the bolus injection test to be so sensitive and specific.

This saturation effect also has a key role for current simulation models.

4 ABKÜRZUNGEN

BMC:	„blood-methacetin-concentration“ - Konzentration von Methacetin im Blut
BPC:	„blood-paracetamol-concentration“ - Konzentration von Paracetamol im Blut
CTP / CP:	„Child-Turcotte-Pugh“ Wert auch „Child-Pugh“ Wert genannt.
CUM:	Prozentuale Erholung bezüglich verabreichter Dosis
CYP1A2:	Cytochrome P450 1A2
Dx:	Versuchstag „x“ der „Dosis-Sport-Studie“
DOB:	“delta over baseline” – Zeitabhängige Änderung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses angegeben in Promille
FLIP:	Fast Liver Investigation Package – Gerät zur Messung der Leberfunktion mittels LiMAx Test.
FLRV[%]:	future liver remnant
ICG:	Indocyanine grün
IV:	intravenös
LiMAx:	„maximal liver function capacity“ – spezieller MBT mit IV-Verabreichung
Lmfit:	High-Level-Schnittstelle für Kurvenanpassungsprobleme für Python
MBT:	„methacetin-breath-test“ Atemtest zur Bestimmung der Leberfunktion
MELD:	„Model for End-stage Liver Disease“
Pub. in:	kurz für „Publiziert in“

5 VORWORT

Im Rahmen dieser Arbeit kam es zu Publikation von drei wissenschaftlichen Artikeln:

Tom Moses Rubin et al.; "Liver status assessment by spectrally and time resolved IR-detection of drug induced breath gas changes." *Photonics*; 2016

Tom Moses Rubin et al.; "Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous ^{13}C -methacetin breath tests."; *Journal of breath research*; 2017

Johan Friso Lock et al.; "LiMAx test improves diagnosis of chemotherapy-associated liver injury before resection of colorectal liver metastases." *Annals of surgical oncology*; 2017.

6 EINLEITUNG

Leberversagen stellt nach wie vor eine der Hauptursachen für die Sterblichkeit nach partieller Hepatektomie dar, lässt sich aber präoperativ nur schwer vorhersagen. Die zeitnahe Bestimmung der akuten Leberfunktion von Patienten ist wichtig, beispielsweise bei der preoperativen Planung unter Berücksichtigung der postoperativen verbleibenden Leberleistung (FLRL) zur Bestimmung des maximal reduzierbaren Anteils sowie bei der perioperativen Frage, ob die Leber korrekt angeflutet wird und arbeitet. Die quantitative Bestimmung der Leberfunktion ist außerdem relevant bei der postoperativen Überwachung des Genesungsprozesses und kann potenziell auch für Optimierung der Reihenfolge auf den Wartelisten für Transplantationen berücksichtigt werden.

Es gibt eine Vielzahl an Tests, mit denen der Zustand der Leber bestimmt werden soll (1). Diese werden in Abschnitt 6.1 näher beschrieben. Für die oben genannten Aufgaben haben sich die quantitativen Tests als besonders hilfreich erwiesen. So liefert der ^{13}C -Methacetinatemtest (MBT) in Verbindung mit intravenös (IV) verabreichter Dosis von 2 mg/kg Körpergewicht den LiMax-Wert (2). Er hat sich in vielen Studien als sehr gut bei der Bestimmung der Leberfunktionskapazität erwiesen (3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11) (12; 13; 14).

Für den LiMax-Test konzipierte und realisierte ich im Rahmen meiner Physik-Diplomarbeit das sogenannte FLIP-Gerät für eine kontinuierliche Echtzeitmessung des abgeatmeten DOB-Wertes (delta-over-baseline; Änderung des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Isotopenverhältnisses in Promille) zur hinreichend genauen Bestimmung des DOB-Maximums direkt am Patientenbett (15).

Was bedeutete „hinreichend genau“ in Bezug auf den DOB-Wert? Entsprechend einer Studie im Zusammenhang mit der Einführung des LiMax-Tests in die klinische Praxis konnte bei 329 Patienten mit Lebertumoren zur partiellen Hepatektomie eine Reduktion der Mortalität von 9,4 % auf 3,4 % ($P = 0,019$) erzielt werden. Die In-Hospital-Mortalitätsraten betragen 38,1 % (8/21 Patienten), 10,5 % (2/19 Patienten) und 1,0 % (1/99 Patienten) für entsprechende postoperative LiMax-Werte in Höhe von $<80 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$, $80\text{-}100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ bzw. $>100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ($P < 0,0001$) (14). In der Literatur gibt es noch keinen ermittelten Zusammenhang zwischen LiMax-Wert und DOB-Wert. Er wurde daher hier in Abschnitt 8.2.5 aus über zehntausend Messreihen zu $13,4(4) \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ pro DOB in Promille bestimmt. Ein LiMax-Intervall von $20 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$, wie bei der oben genannten Einteilung, entspricht somit durchschnittlich einem DOB-Intervall von $1,5(1)$ Promille. Entsprechend wurde „hinreichend genau“ mit einer DOB-Auflösung von 1 Promille spezifiziert und technologisch mit dem FLIP-Gerät auch erreicht.

Der LiMAX-Test zeigte sich bereits in einer Vielzahl an Untersuchungen hervorragend für jegliche Art der Bestimmung und Überwachung der Leberfunktion. Während dieser Arbeit wurde beispielsweise seine Eignung zur Einschätzung der Leberschädigung im Zusammenhang mit Chemotherapien bewertet (beschrieben in Abschnitt 8.3). Da kleinste Veränderungen bereits als Indikatoren dienen können, wurde eine weitere Verbesserung der DOB-Genauigkeit angestrebt. Beispielsweise mit dem in Abschnitt 8.5 untersuchten Ansatz, die DOB-Werte zur Unterdrückung des Einflusses der Streuung der Messwerte bei der Bestimmung des für den LiMAX-Wert relevanten DOB-Maximums zu fitten. Mit dem Ziel, ein Messgerät für einen optimalen Test zu entwickeln, kam es bei mir auch zu dem Wunsch, ein möglichst gutes Verständnis dafür zu erlangen, welche Prozesse einen Einfluss auf das Messergebnis haben. Nachdem die technologischen Aspekte bezüglich des LiMAX-Tests hinreichend optimiert und die gesetzten Ziele bezüglich DOB-Genauigkeit und Zeitauflösung übertroffen wurden, rückte der medizinisch-biologische Aspekt in den Fokus und liefert die Basis dieser Arbeit. Die entsprechende Fragestellung lautet daher:

„Welche medizinisch-biologischen Faktoren haben einen merklichen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der LiMAX-Testergebnisse und deren Interpretierbarkeit?“

Insbesondere wurden im Rahmen dieser Arbeit die folgenden drei Teilaspekte untersucht:

1. Welchen Einfluss haben Probandencharakteristika, die sich während des Tests nicht ändern: z.B. Geschlecht, Größe, Alter und Zigarettenkonsum?
2. Welchen Einfluss haben Probandencharakteristika, die sich während des Tests ändern, bzw. ändern können: CO₂-Produktion, Herzrate und Blutzirkulation? (Geben Kurvenformen Aufschluss über die Validität der Testergebnisse?)
3. Welchen Einfluss hat die Art der Verabreichung und die gewählte Dosis – insbesondere: Gibt es einen merklichen Sättigungseffekt? Und falls ja, unter welchen Bedingungen?

Es folgt nun in Abschnitt 6.1 eine Übersicht der relevanten Methoden zur Einschätzung der Leberfunktion. Vier der hier beschriebenen Tests sind wichtig für diese Arbeit, da sie später erneut aufgegriffen werden: „ICG“, „CTP“, „MELD“ und der „konventionelle MBT“. Als „verbessertes MBT“ wird anschließend der LiMAX-Test erklärt. Es werden wichtige Messgrößen definiert und bereits bekannte Herausforderungen vorgestellt, wie beispielsweise der Einfluss der CO₂-Produktion auf das Testergebnis.

Anschließend werden aktuelle Ansätze zur Simulation der DOB-Kinetik in Abschnitt 6.2 vorgestellt. Sie berücksichtigen die in dieser Arbeit untersuchten Sättigungseffekte nicht, was eine wahrscheinliche Erklärung für die derzeit noch deutlichen Abweichungen zwischen diesen

Simulationen und den experimentellen Daten sein könnte. Dieser Abschnitt endet mit dem 2DOB-Test zur Berücksichtigung der individuellen und aktuellen Bikarbonat-Dynamik. Auch zu diesem Test besteht ein enger Bezug, da die Fragestellung dieser Arbeit sich genau mit den Punkten beschäftigt, die diesen Test potenziell deutlich verbessern werden.

6.1 METHODEN ZUR BESTIMMUNG DER LEBERFUNKTION:

Die valide Einschätzung der Leberfunktion ist eine Herausforderung im klinischen Alltag. Die Leber vollführt eine Vielzahl an verschiedenen physiologischen Funktionen und entsprechend wurden verschiedene Tests und Methoden entwickelt, um die jeweilige Funktionsweise bzw. den Zustand der Leber zu bewerten (16). Dazu gehören beispielsweise die Biopsie (17) (18), Computertomographie (CT) (19), Magnetresonanz Imaging (MRI) (20), der Child-Turcotte-Pugh (CTP) Wert (21), der Model For End-Stage Liver Disease (MELD) Wert (22), die Fibroscan-Methode (23), der Fibrotest (24) und quantitative Tests wie der Indocyanine Green (ICG) Test (25) und Atemtests mit isotonenangereicherten Diagnostica, insbesondere ¹³C-markierten Substanzen. Diese Substanzen sind Aminopyrin, Galactose, Koffein und Methacetin (26). Im Folgenden werden, die im beiden im Zusammenhang mit dieser Arbeit relevanten alternativen Methoden: ICG-Test und konventioneller MBT zur Einschätzung des Zustandes der Leber genauer beschrieben.

6.1.1 ICG-Test (Indocyaningrün)

Der fluoreszierende Farbstoff Indocyaningrün ($C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$), kurz ICG, wird im Rahmen verschiedener diagnostischer Verfahren angewendet. Dank seiner hohen Bindungsaffinität zu sämtlichen Plasmaproteinen erlaubt die lichtbasierte Messung der Plasmaverschwinderate durch die Haut eine Abschätzung der Leber- und Splanchnikusperfusion. Entsprechend wurde bereits im Jahr 1959 die intravenöse Verabreichung zur Diagnostik von Lebererkrankungen zugelassen. Zu den Nachteilen des Tests zählt, dass beispielsweise eine Cholestase das Messergebnis massiv beeinflusst. So liegt die Extraktionsrate in der Studie von Stockmann et al. nur noch bei knapp einem Viertel (27) (28). Teilweise schlägt die Bestimmung des ICG-Wertes mittels Fingersonde fehl, wie beispielweise in 14,3% der Tests, publiziert von Kaffarnik et al., aufgrund unzureichender peripherer Durchblutung (10). Der Vorteile des Tests unter „Normalbedingungen“ sind natürlich die einfache, aber dennoch hochauflösende Detektion des Abklingverhaltens der Farbstoffkonzentration im Blut durch eine optische Messung direkt durch die Haut.

6.1.2 Der „alte“ Methacetin-Atemtest mit fester Dosis und oraler Verabreichung

In den Siebzigerjahren wurde der Methacetin-Atemtest (MBT) entwickelt. Methacetin (N-(4-methoxyphenyl)ethanamide) wird zu Paracetamol metabolisiert und sollte ursprünglich als schmerzstillendes und fiebersenkendes Mittel eingesetzt werden. Für den Atemtest wurde es anfänglich noch mit dem instabilen Isotop ^{14}C , später mit dem stabilen und somit harmlosen ^{13}C markiert. In mehreren Studien wurde das Potential des MBT zur Diagnose der Leberfunktion gezeigt. Entsprechend der Testprotokolle werden hierbei zwischen 75 mg und 150 mg Isotopenmarkiertes Methacetin oral verabreicht. Über den gastrointestinalen Trakt gelangt das Methacetin in den Blutkreislauf und erreicht somit die Leberzellen. In gesunden Leberzellen wird das ^{13}C -Methacetin in $^{13}\text{CO}_2$ und Paracetamol vom Isoenzym Cytochrom P450 1A2 metabolisiert. Das $^{13}\text{CO}_2$ gelangt in den Blutkreislauf und erhöht somit den ^{13}C -Bikarbonatpool, was eine Erhöhung des abgeatmeten $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses ($R(t)$) zur Folge hat. Diese relative Erhöhung wird im folgenden DOB (Delta Over Baseline) genannt und in Promille angegeben:

$$DOB(t) = \frac{R(t) - R(t_0)}{R(PDB)} \times 1000. \quad (1)$$

Hierbei ist $R(PDB)$ der Referenzwert des $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses nach dem Pee-Dee-Belemnite Standard.

Sowohl für die verabreichte Dosis als auch für den Zeitpunkt des Sammelns der Atemproben gibt es in der Literatur keinen Konsens für ein Optimum. Durch die inter- und intraindividuell unterschiedlichen Magenentleerungszeiten scheint die Definition eines zeitlichen Optimums auch wenig plausibel.

6.1.3 (Cumulative Recovery) Abgeschätzter, abgeatmeter Anteil der verabreichten Dosis

Daher wurden Versuche unternommen, die Absolutmenge des bereits umgesetzten und abgeatmeten Methacetins zu bestimmen, indem zu mehreren Zeitpunkten Atemproben gesammelt wurden. Aus dem zeitlichen DOB-Verlauf und Schätzwerten der abgeatmeten CO_2 -Gesamtmenge in Höhe von 300 mmol pro Quadratmeter Hautoberfläche (nach Formel (4)) und Stunde wurde dann der bereits umgesetzte Anteil $CUM(t)$ (cumulative recovery) abgeschätzt. Abgeschätzt deshalb, weil der Anteil: „Bereits abgeatmeter ^{13}C – Überschuss“ in Formel (2) lediglich ein Schätzwert ist, der unter realen Bedingungen stark abweichen kann.

$$CUM(t) = 100\% * \frac{\text{Bereits abgeatmeter } ^{13}\text{C} - \text{Überschuss}}{\text{Absolutmenge verabreichtes } ^{13}\text{C}} \dots \quad (2)$$

Dieser Wert ist typischerweise bei der Betrachtung von Pharmakokinetiken von höchster Relevanz.

6.1.3.1 Abschätzung des Einflusses der tatsächlichen CO₂-Produktion und Dynamik

In der klinischen Routine zeitaufgelöster MBTs hatte sich gezeigt, dass plötzliche und übermäßige Unruhen der Probanden, beispielsweise in Form von Bewegungen während des Tests, das Messsignal kurzfristig merklich absinken lassen können. Eine deutliche Veranschaulichung, welchen Einfluss damit verbundene unterschiedliche CO₂-Produktionen und Abatmungsraten haben könnten, liefern die in Abbildung 1 dargestellten Simulationen von Holzhütter et al. (29).

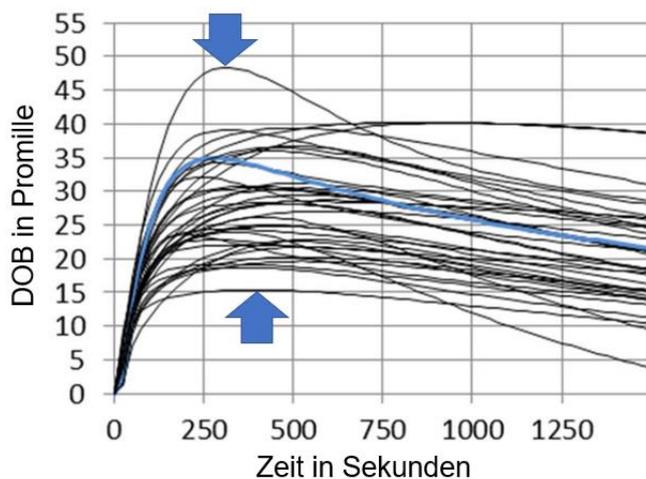


Abbildung 1 - Datenreihen aus Ref. (29): Die Abbildung zeigt den theoretischen Einfluss der CO₂-Produktion und der Bikarbonat-Dynamik der Probanden auf die zu messende DOB-Kinetik. Anhand des im Artikel beschriebenen Modellansatzes wurde der theoretische Methacetinumsatz aus einer gemessenen DOB-Kinetik berechnet und anschließend jeweils mit den direkt gemessenen Bikarbonatkinetiken von 37 weiteren Probanden kombiniert. Ein sehr deutlicher Einfluss der Bikarbonat-Dynamik ist erkennbar. Eine solche Schwankungsbreite der Maxima hätte einen dramatischen Einfluss auf die Sensitivität und Spezifität des MBTs und taucht gewöhnlich in der klinischen Routine in dieser Größenordnung nicht auf. Ziel dieser Arbeit ist es genau hierfür, ein gutes Verständnis zu generieren.

Die Maxima der simulierten DOB-Kinetiken unterscheiden sich massiv und variieren im Bereich von 15 ‰ bis 48 ‰. Mögliche Ursachen für derart starke Abweichungen werden im Rahmen dieser Arbeit erläutert. Sie tauchen (bei Einhaltung des LiMax-Testprotokolls) in der klinischen Routine typischerweise nur dann auf, wenn eine massive Störung des Tests stattgefunden hat. Eine Möglichkeit der Prüfung der Validität des Testergebnisses wird im Abschnitt 8.2 im Zusammenhang mit der Analyse der Form der DOB-Kinetik anhand von 10100 Messungen aus der klinischen Routine geliefert.

6.1.3.2 Direkte Messung der CO₂-Abatmung und Messungen mit hoher Zeitauflösung

Alternativ zur theoretischen Berechnung kann die abgeatmete CO₂-Absolutmenge experimentell gemessen werden. Beispielsweise kann das FLIP-Gerät sowohl den Volumenstrom der gesamten ausgeatmeten Luft als auch die entsprechende CO₂-Konzentration mit hoher Zeitauflösung messen und liefert somit die Möglichkeit, die prozentuale Erholung $CUM(t)$ und die CO₂-Abatmung direkt zu bestimmen, anstatt die Werte abzuschätzen. Ferner besteht die Möglichkeit, das DOB-Maximum und die Zeit bis zum Erreichen dieses Maximums sehr genau zu bestimmen, sowie die Form der DOB-Kinetik zu

analysieren. Letzteres wurde im Rahmen dieser Arbeit gemacht. Beides, Ergebnisse der Messung der abgeatmeten CO₂-Absolutmenge und die mit dem FLIP-Gerät erreichte Auflösung (zeitlich und in Bezug auf den DOB-Wert) werden im Abschnitt 8.1 vorgestellt.

6.1.4 Der LiMAx-Test (IV Verabreichung und Körpergewicht-proportionaler Dosis)

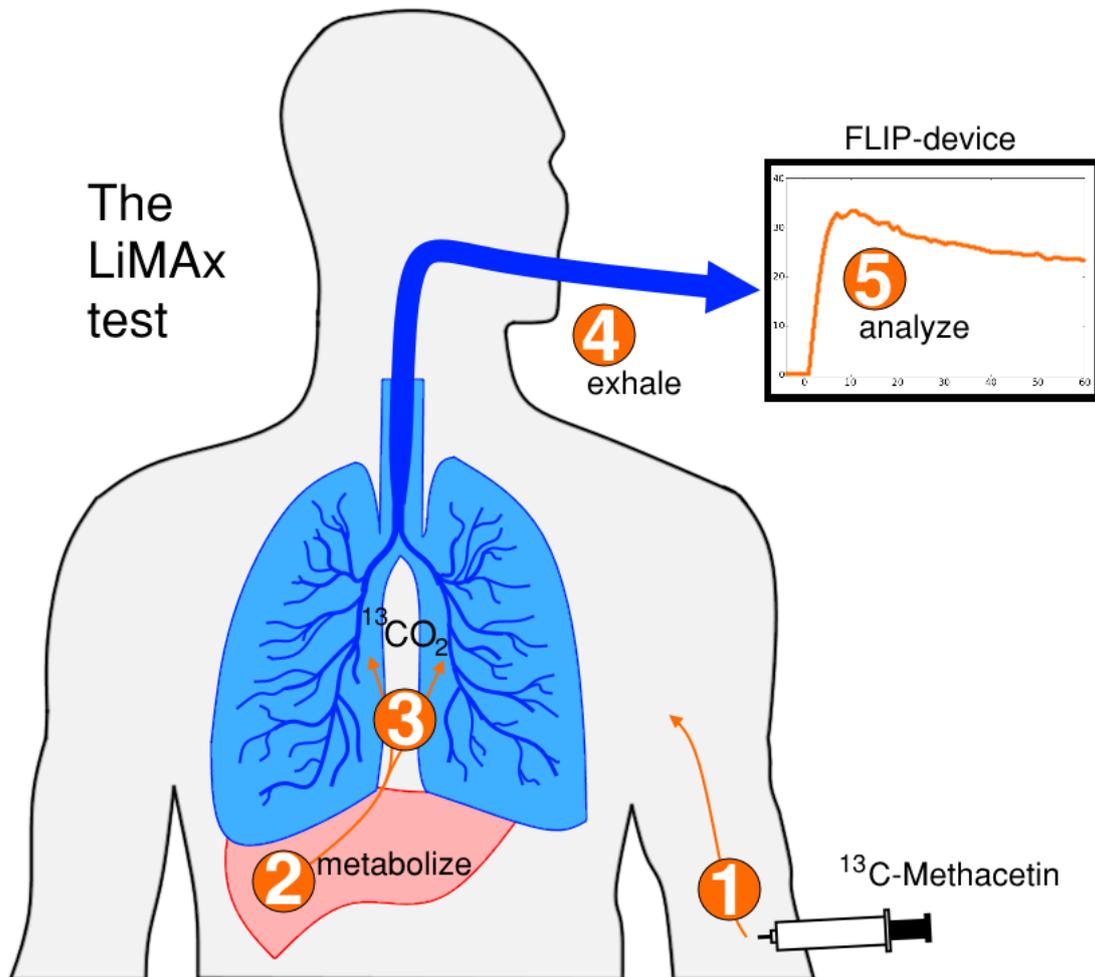


Abbildung 2: Der LiMAx-Test. 1: Injektion im Bolus; 2: Metabolisierung in der Leber nach Transport über den Blutkreislauf; 3: Umverteilung des in der Leber entstandenen ¹³C-Bicarbonats in den Blutkreislauf und anteilige Abatmung über die Lunge; 4: Abatmung über spezielle Atemmaske (näher im Text beschrieben); 5: Analyse des abgeatmeten ¹³CO₂-Überschusses anhand der gesamten Ausatemluft.

Der LiMAx-Test (Abbildung 2) minimiert dank intravenöser Verabreichung des Diagnostikums das Problem der durch die Magenentleerungszeit undefinierten Startzeit beim oralen MBT. Durch die Injektion im Bolus erreicht die Methacetinkonzentration im Blut (BMC) für eine kurze Zeit einen hohen und vergleichsweise wohl definierten Wert, was für eine möglichst vergleichbare Bestimmung der maximalen Metabolisierungsrate und der damit assoziierten Leberleistung notwendig ist. Ferner wird die Vergleichbarkeit des Testergebnisses zwischen den Probanden dadurch verbessert, dass die verabreichte Methacetindosis nicht einem festen Wert entspricht, sondern proportional zum Körpergewicht gewählt wird. Die Menge beträgt

2 mg Methacetin pro kg Körpergewicht. Aus dem Maximum „DOB(Max)“ der Kinetik wird der LiMax-Wert berechnet, der sehr gut mit der Leberleistung korreliert (12). Abbildung 3 zeigt drei typische Verläufe der DOB-Kinetik für drei unterschiedliche Leberfunktionen.

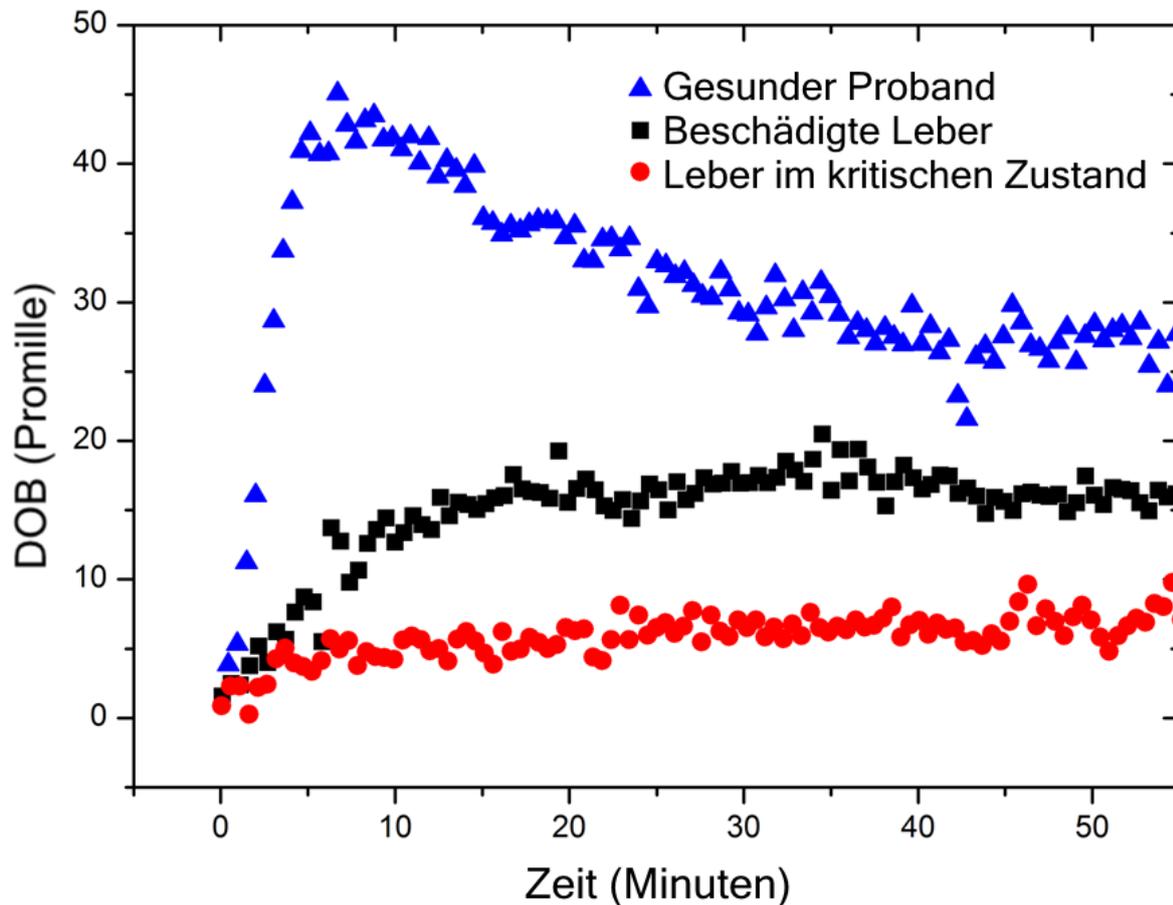


Abbildung 3: Für den LiMax-Test typischer Verlauf der DOB-Kinetik für drei deutlich verschiedene Leberzustände.

Die Berechnung des LiMax-Wertes erfolgt nach Formel (3):

$$LiMax = \frac{DOB(Max) * R(PDB) * P * M}{BW} \quad [\mu g/h/kg] \quad (3)$$

Hierbei ist P die CO_2 -Produktion entsprechend der Hautoberfläche mit $300 \text{ mmol}/(h * m^2)$, M ist die Molmasse von ^{13}C -Methacetin mit $166 \text{ mg}/\text{mmol}$ und BW ist das Körpergewicht in kg (30). Die Hautoberfläche „BSA“ berechnet sich mit der Größe „H“ in cm nach der Formel (4) von Haycock et al. zu:

$$BSA = 0.024265 * BW^{0.5378} * H^{0.3964} \quad [m^2]. \quad (4)$$

6.1.4.1 LiMax-Werten und assoziierte Leberstadien und Werte anderer Tests

Die Tabelle 1 liefert einen guten Überblick in Bezug auf die Einordnung der LiMax-Werte. Die Werte stammen aus der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten retrospektiven Auswertung von 10100 DOB-Kinetiken (31). Sie werden hier in der Einleitung bereits aufgeführt, da sie für das weitere Verständnis hilfreich bzw. notwendig sind. Die hier definierten sieben Gruppen werden beispielsweise bei einigen der hier in der Einleitung folgenden Simulationen der MBT-Kinetiken wieder aufgegriffen (siehe hierzu Abbildung 8 und Abbildung 9).

Gruppe	Leberstatus	Anzahl	LiMax-Intervall (µg/kg/h)	Mittelw. (µg/kg/h)	CTP-Wert (assoziiert)	MELD-Wert (assoziiert)	T(max/2) (min:sec)	DOB(max/2) (Promille)
1	Durchschnittliche Funktion	1,878	> 420	449			03:12	17.9
2	Noch normale Funktion z.B. milde Fibrose	1,254	353 - 420	391			03:27	13.6
3	Leichte Schädigung z.B. schwere Fibrose	1,970	267 - 353	315			03:48	11.1
4	Schwere Schädigung z.B. leichte Zirrhose	1,986	182 - 267	219	5 (A)	6	04:33	8.2
5	Schwere Dysfunktion z.B. fortgeschrittene Zirrhose	1,363	120 - 188	144	6-7 (B)	7-10	05:57	5.5
6	Kritische Dysfunktion z.B. Zirrhose im Endstadium	830	75 - 120	94	8-9 (C)	11-18	07:51	3.5
7	Finales Leberversagen z.B. Akute Dekompensation	819	0 – 75	56	>9 (C)	>18	10:45	1.75

Tabelle 1: Sieben Gruppen entsprechend der LiMax-Intervalle mit zugehörigen CTP- und MELD-Werten sowie dem assoziierten Leberstatus (31).

Der LiMax-Wert hat nicht nur eine qualitative Aussagekraft, sondern auch quantitative. Er skaliert in guter Näherung linear mit dem funktionstüchtigen Lebervolumen, was ein hervorragendes Monitoring der Leberregeneration ermöglicht.

Die Spezifizierung „funktionstüchtiges Volumen“ wurde hier gewählt, da im folgenden Abschnitt davon ausgegangen wird, dass beispielsweise tumoröses Volumen nicht merklich zur Leberfunktion beiträgt. Somit müssen für eine Korrelationsanalyse die hier verwendeten

Werte der präoperativen Lebervolumen zur Berechnung des Rest-Lebervolumens zunächst korrigiert werden.

6.1.4.2 Linearer Zusammenhang von Rest-Lebervolumen und „Rest LiMAx“.

Vergleicht man das Verhältnis vom korrigierten Rest-Lebervolumen (FRLV[%]) und vom „Rest-LiMAx POD 1“ (LiMAx-Wert am ersten Tag nach einer Leberteilresektion (POD1)) so ergibt sich ein linearer Zusammenhang, wie in Abbildung 4 dargestellt. FRLV[%] wird unter Berücksichtigung des Tumorzvolumens entsprechend der Formel (5) bestimmt:

$$\text{FRLV}[\%] = 100 \frac{\text{Lebervolumen (ml)} - \text{Resizierte Leber(ml)} * 1,15}{\text{Lebervolumen(ml)} - \text{Tumorzvolumen(ml)}} \quad (5)$$

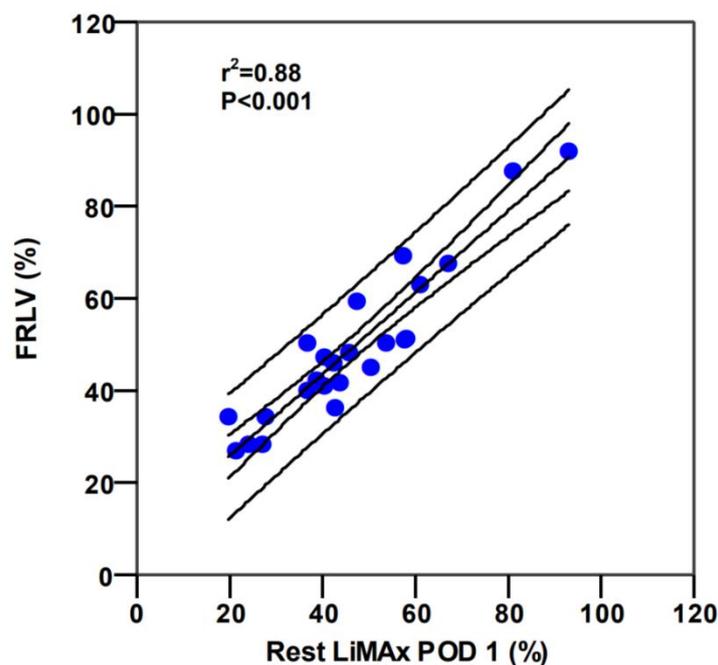


Abbildung 4 aus Referenz (27): Korrelationsanalyse (Pearson) zwischen FRLV und Rest-LiMAx. Dargestellt ist die Regressionsgerade mit mittlerem und individuellem 95% Konfidenzintervall.

Der beste lineare Fit von den Rest-Lebervolumina aufgetragen über die Rest-LiMAx-Werte zeigt allerdings einen (nicht signifikanten) Offset. Das ist unerwartet, denn wenn keine Leber vorhanden ist, gibt es auch keine Metabolisierung und somit ist auch der LiMAx-Wert null (siehe hierzu „anhepatische Messungen“ in (27)). Dies war ein Hinweis auf ein mögliches „Sättigungsverhalten“ bezüglich der Extraktionsrate und motivierte daher einen wichtigen Teilaspekt dieser Arbeit. Ich stellte die Frage nach einer potenziellen Dosisabhängigkeit der Extraktionsrate, welche dann Basis der später folgenden Dosis-Sport-Studie wurde. Diese Studie wurde im Rahmen der Dissertation von Pouria Taheri (2017) begleitet und ausgewertet.

6.1.4.3 Dosisabhängigkeit und Sättigungsverhalten (entsprechend „Dosis-Sport-Studie“)

In der Dissertationsschrift „Untersuchung von $^{13}\text{CO}_2$ Entstehung, Verteilung und Ausscheidung zur verbesserten Interpretation der Ergebnisse beim ^{13}C -Methacetin Atemtest zur Messung der enzymatischen Leberfunktion“ von Pouria Taheri aus 2017 kam es so zur qualitativen Aussage, dass es bei gesunden Probanden nicht „langfristig“ zur Sättigung kommt (32).

Hierbei wurden die Datensätze der fortan „Dosis-Sport-Studie“ genannten Studie analysiert (Mehr Informationen hierzu im Methodikteil 7.4). Allerdings wurden sie nicht mit hoher Zeitauflösung betrachtet. Die DOB-Werte wurden mit dem zur Onlinemessung modifizierten FANci2 von Fischer Analyse Technik aufgenommen (27). Wie in Abbildung 3 (und in den später folgenden Abbildungen in Tabelle 6 zur Reproduzierbarkeit einzelner Ergebnisse aus der Dosis-Sport-Studie) zu sehen ist, sorgt der durch das Messverfahren gegebene variable Abstand von deutlich über einer Minute zwischen den Messzeitpunkten dafür, dass nicht zu allen gewünschten Zeitpunkten Messwerte vorliegen.

Es wurden hierbei nämlich zusätzlich zu den DOB-Werten auch die Serumkonzentrationen für Methacetin und Paracetamol im Blut bestimmt. Die Blutentnahme erfolgte zu festen Zeitpunkten nach der Methacetininjektion, nämlich jeweils zu 0; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 30 und 60 Minuten.

Diesen neun Zeitpunkten wurden dann die DOB-Werte zugeordnet, welche zeitlich am nächsten dran lagen und anschließend für die Auswertung gemittelt.

Die Daten wurden nicht interpoliert. Dieser Ansatz wird im Rahmen dieser Arbeit verfolgt und liefert die Basis für eine genaue Auswertung, weitere Analysen und entsprechende Schlussfolgerungen.

6.2 SIMULATION DER DOB-KINETIK BEIM MBT

Zur Simulation physiologischer Einflüsse auf das Messergebnis des MBTs ist ein hinreichend komplexes Modell nötig, welches die Änderungen der Pharmakokinetik in Abhängigkeit möglicher Einflussfaktoren, wie beispielsweise der CO₂-Produktion, richtig wiedergibt. Hierfür wird zunächst ein Modell benötigt, welches die möglichen komplexen Pfade im menschlichen Körper und die damit assoziierten Zeiten ausreichend genau beschreibt.

Beim LiMax-Test, wird das mit ¹³C markierte Methacetin typischerweise in eine der großen Venen in der Armbeuge injiziert und gelangt so mit dem venösen Blut in die rechte Herzkammer. Über den Lungenkreislauf gelangt es zur linken Herzkammer und kann von hier aus zufällig eine von vielen Routen durch die Blutgefäße zurücklegen, bis es wieder in der rechten Herzkammer angelangt. Das Modell von König et al., siehe Abbildung 7, gibt hier eine Übersicht der wichtigsten zusammengefassten Blutkompartimente entsprechend den möglichen Routen. Die Zeiten, die das Methacetin (oder beispielsweise auch das Bikarbonat) hierfür benötigt, hängen jeweils von der entsprechenden Route ab.

Durch die Arterien ist es binnen weniger Sekunden in den kleinsten Blutgefäßen, den Kapillaren. Von hieraus benötigt es über das Venensystem deutlich länger zurück zum Herzen.

In Tabelle 2 sind hierfür berechnete durchschnittliche Zirkulationszeiten entsprechend den Blutflüssen und Blutkompartiment-Volumen einzelner Routen in Ruhe und bei sportlicher Aktivität aufgeführt (33).

Tabelle 2: Typische Volumina und Flussmengen im menschlichen Blutkreislauf in Ruhe und mit Sport (33)

Route	Volumen der Kompartimente in Liter	Werte in Ruhe			Werte beim Sport		
		Fluss Q in l/Minute	Durchschnitt. Zirkulations-Zeit in Sek.	Anteil an Q(gesamt)	Fluss Q in l/Minute	Durchschnitt. Zirkulations-Zeit in Sek.	Anteil an Q(gesamt)
Leber direkt	0,125	0,30	25	0,06	0,30	25	0,02
Leber MDT	0,875	1,05	50	0,21	0,30	175	0,02
Niere	0,500	1,00	30	0,20	0,55	55	0,04
Muskeln	2,000	0,75	160	0,15	8,00	15	0,64
Hirn	0,100	0,65	9	0,13	0,65	9	0,05
Knochen & Andere	1,000	0,65	92	0,13	0,45	133	0,04
Haut	1,000	0,45	133	0,09	1,70	35	0,14
Herz	0,010	0,15	4	0,03	0,55	1	0,04
Summe	5,610	5,00			12,50		

Für das später folgende Modell aus Abbildung 7 wurden vergleichbare Parameter entsprechend den Literaturwerten von Jones et al. (34) verwendet und um jeweils 10% variiert, um in Analogie zu einer Monte-Carlo-Simulation ein Fehlerintervall zu erzeugen. In den Abbildung 8 bis Abbildung 17 sind diese Fehlerintervalle als entsprechend farbig eingefärbtes Intervall um die simulierten Werte herum dargestellt.

Die Simulationen umfassen vereinfacht zwei Teilaspekte der ^{13}C -Pharmakokinetik – erstens, den Weg von der Injektion bis zur Leber und zweitens, den Weg von der Leber bis zur Abatmung.

Im Detail zirkuliert das Methacetin mindestens so lange im Blutkreislauf, bis es eine der beiden Routen zur Leber nimmt. Entweder über die direkte Blutversorgung oder über die Pfortader. Nun gibt es die Möglichkeit entsprechend der Extraktionsrate (Für Methacetin liegt diese laut Armuzzi et al. (35) typischerweise für gesunde Menschen bei über 80%), dass es in die Hepatozyten gelangt und dort innerhalb kurzer Zeit (Reaktionszeiten von 4-50 Sekunden laut Güngerich et al. (36) (37)) verstoffwechselt wird. Alternativ passiert das Methacetin die Leber und gelangt erneut zum Herzen.

Sobald das Methacetin in der Leber zu Paracetamol und $^{13}\text{CO}_2$ verstoffwechselt wurde, gelangt das ^{13}C ins venöse Blut, entweder direkt ins Blutplasma als Kohlenstoffdioxid oder als Bikarbonat ($\text{H}^{13}\text{CO}_3^-$) oder als Carbamino-Hämoglobin (CO_2Hgb) gebunden an die Erythrozyten. In den Blutgefäßen zirkuliert es dann so lange auf den beschriebenen Routen aus Tabelle 4, bis es entweder abgeatmet wird oder zunächst für unbestimmte Zeit ins Gewebe (z.B. des Knochens) aufgenommen wird.

Der zweite Teilaspekt bezüglich der Dynamik der Bikarbonatkompartimente wurde beispielsweise von Irving et al. isoliert untersucht und wird im Folgenden beschrieben.

6.2.1 Dynamiken und Größen der Blutkompartimente

Zur Bestimmung der Bikarbonat-Dynamik und der entsprechenden Kompartimente bzw. Poolgrößen wurden zwei Männern (23 und 31 Jahre alt) und drei Frauen (21, 22 und 28 Jahre alt) jeweils an drei unterschiedlichen Tagen $10 \mu\text{mol } ^{13}\text{C}$ -angereichertes Bikarbonat ($\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$) pro kg Körpergewicht (BW) im Bolus injiziert und anschließend der abgeatmete DOB-Wert über die Dauer von 6 Stunden vermessen. Zum Vergleich werden beim LiMAX-Test $2 \text{ mg } ^{13}\text{C}$ -Methacetin pro kg BW injiziert, was bei 166 g/mol einem Wert von $12 \mu\text{mol} / \text{kg BW}$ entspricht. Abbildung 5 zeigt die jeweils drei entsprechenden Kinetiken für die fünf Personen.

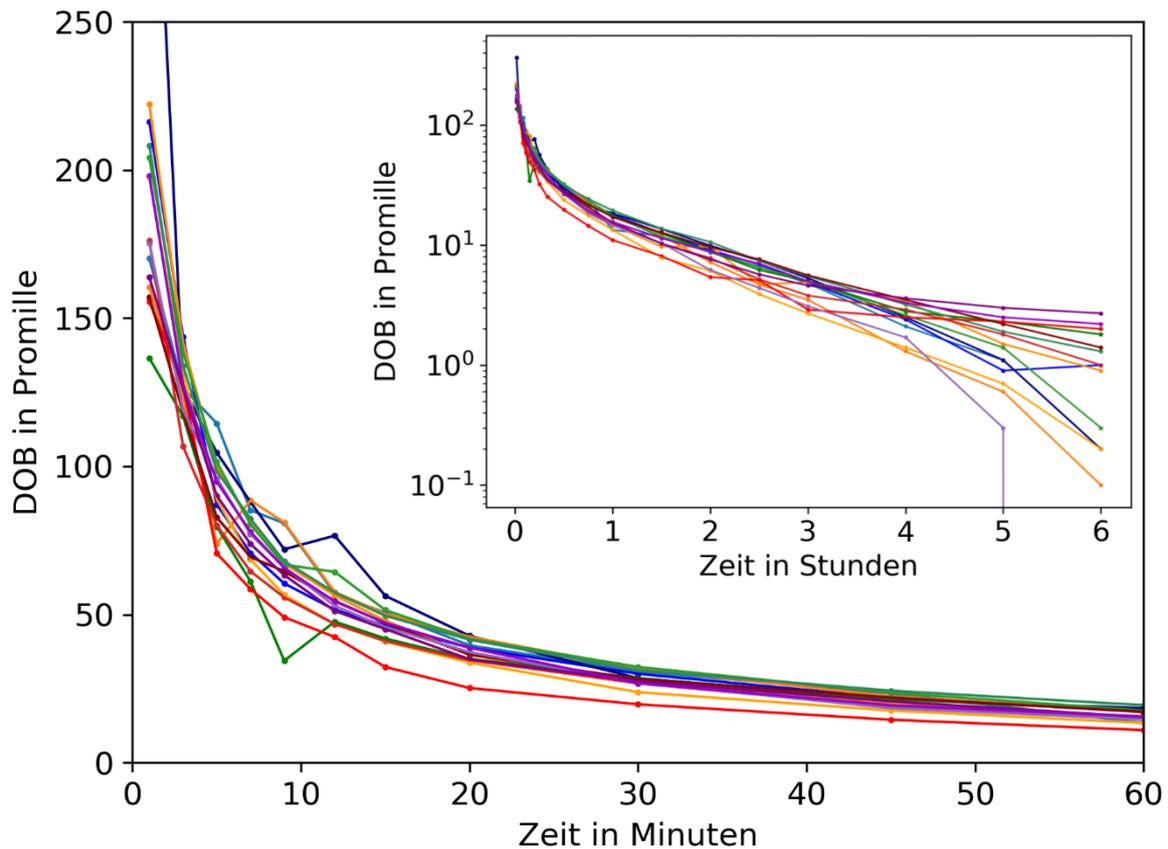


Abbildung 5: Plot erstellt anhand der Daten aus Referenz [Irving 83] – Abgeatmeter $^{13}\text{CO}_2$ -Überschuss nach Bolusinjektion von $10 \mu\text{mol } ^{13}\text{C}$ -angereichertem Bikarbonat ($\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$) pro kg Körpergewicht.

Der Verlauf der Bikarbonat-Dynamik wird später im Abschnitt Auswertung verwendet, um die DOB-Kinetiken zu entfalten und somit die Metabolisierung zum jeweiligen Zeitpunkt während der Messdauer zu bestimmen. Hierbei ist ebenfalls entscheidend, wie auch beim LiMAX-Testprotokoll, dass sich die Probanden absolut ruhig verhalten, da bereits leichte Bewegung zu einer starken Änderung der Dynamik führt. Dies wird deutlich anhand einer weiteren Studie.

Hierbei wurde der Einfluss von körperlicher Ertüchtigung auf die Abatmung des $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses nach der Bolus-Injektion von $1176 \mu\text{mol } ^{13}\text{C}$ -angereichertem Bikarbonat ($\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$) untersucht (38).

„Light Exercise“ bedeuten hier 50% des Laktatlimits und die drei- bis vierfache Menge an Sauerstoffaufnahme verglichen mit dem Zustand in Ruhe „Rest“. „Moderate Exercise“ bedeuten hier 95% des Laktatlimits und das Sechsfache an Sauerstoffaufnahme vergleichen mit Zustand „Rest“. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Abbildung 6 zu sehen.

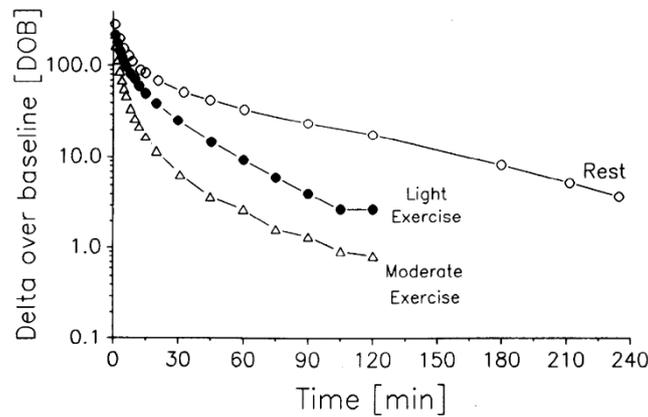


Abbildung 6 zeigt die in der Literatur zu findenden gemittelte Messwerte für 6 Männer (21-34 Jahre) der Abatmung des $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses nach der Bolus-Injektion von $1176 \mu\text{mol } ^{13}\text{C}$ -angereichertem Bikarbonat ($\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$). „Light Exercise“ bedeutet 50 % des Laktatlimits und die drei- bis vierfache Menge an Sauerstoffaufnahme verglichen mit dem Zustand in Ruhe „Rest“. „Moderate Exercise“ bedeuten 95 % des Laktatlimits und das Sechsfache an Sauerstoffaufnahme verglichen mit dem Zustand „Rest“. Referenz (38).

Zu beachten ist hierbei, dass die y-Werte in Abbildung 6 logarithmisch dargestellt sind. Es wird deutlich, dass die Unterschiede in der Abatmung des $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses mit und ohne körperliche Ertüchtigung erheblich sind. Der Vollständigkeit halber sind in Tabelle 3 noch die zugehörigen Probanden-Charakteristika aufgelistet.

Tabelle 3: Probanden-Charakteristika zu Abbildung 6. VO_2 entspricht der Sauerstoffaufnahme am Laktatlimit.

Teilnehmer Nr.	Alter in Jahren	Gewicht in kg	$\text{VO}_2(\text{Max})$ in l/min
1	23	86,5	2,37
2	33	65,8	2,73
3	26	73,6	3,48
4	23	74,8	2,91
5	31	68,2	4,02
6	29	79,5	2,96

6.2.2 Modell zur Simulation der MBT-Kinetik von König et al.

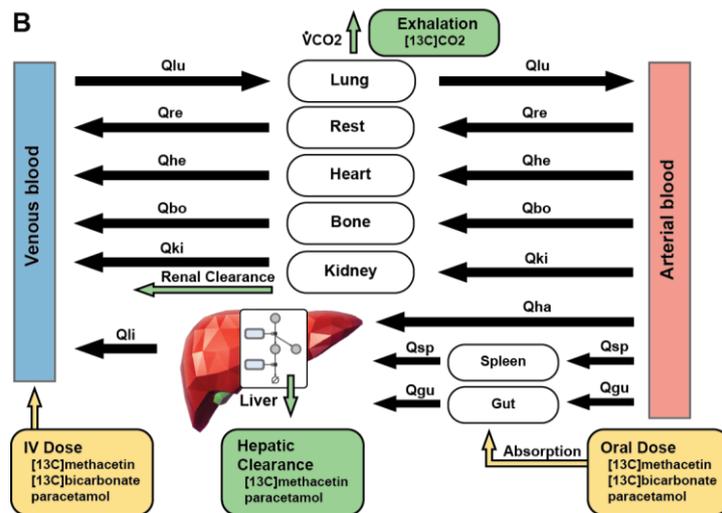
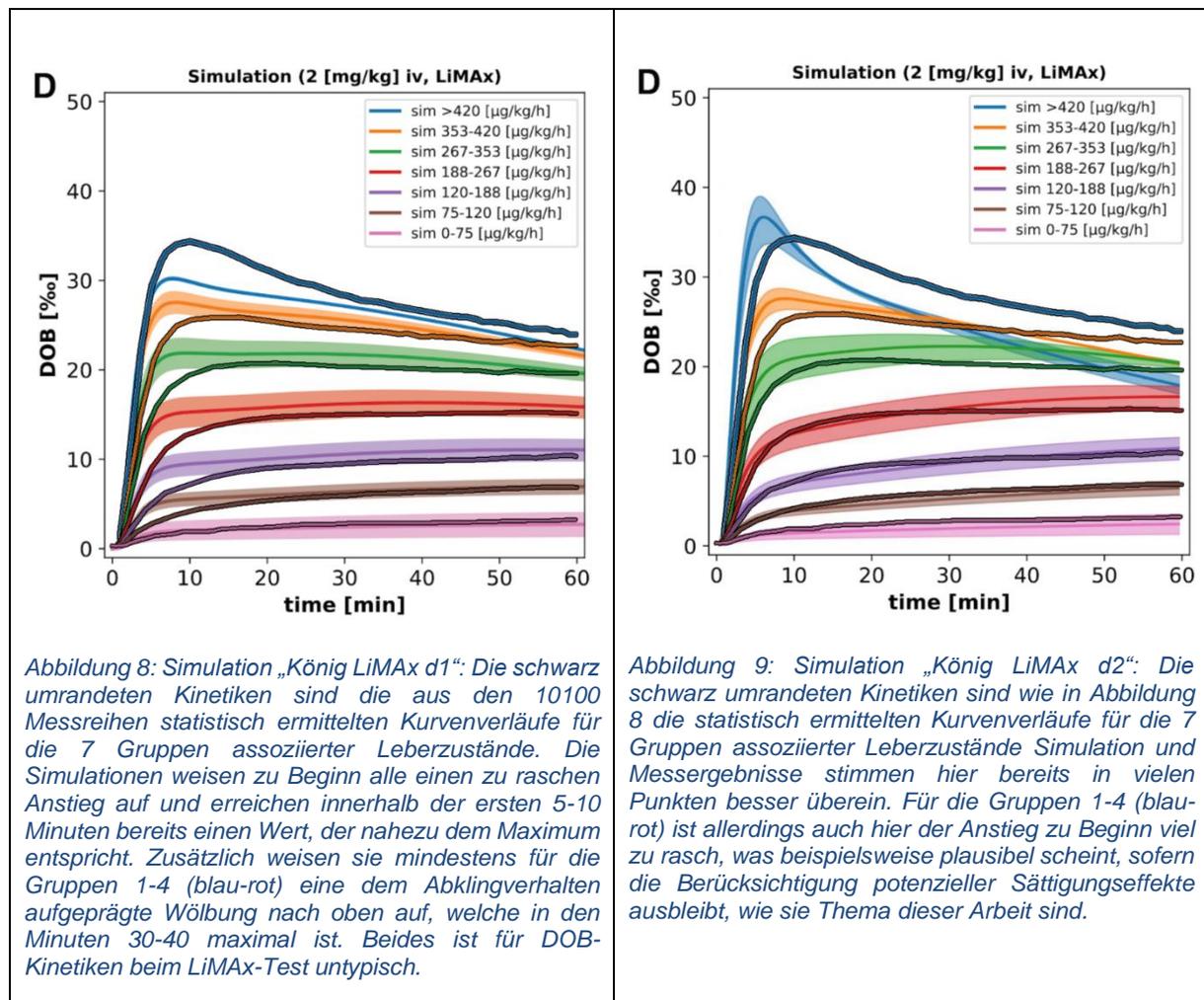


Abbildung 7 publiziert von König et al. Referenz (39). Sie beschreibt das Modell zur Simulation des MBT und die hierbei berücksichtigten Blutflüsse und Kompartimente.

Mit dem Modell von König et al. lassen sich die DOB-Kinetiken verschiedener MBTs derart gut simulieren, dass Simulationen und Messwerte vieler Messreihen im Rahmen der Unsicherheiten übereinstimmen (39).

Allerdings fallen auch hier immer wieder systematische Abweichungen auf, welche auf potenzielle Sättigungseffekte hinweisen und somit den entsprechenden Aspekt dieser Arbeit motivieren. In Tabelle 4 werden diese Abweichungen im Zusammenhang mit den entsprechenden Abbildungen (Abbildung 8 bis Abbildung 17) beschrieben.

Tabelle 4: Simulationen nach dem Modell von König et al. 2018 im Vergleich mit den entsprechenden experimentellen Daten (39). Ausgewählt wurden die Vergleiche, bei denen Abweichungen gut erkennbar sind, welche auf ein potenzielles Sättigungsverhalten schließen lassen.



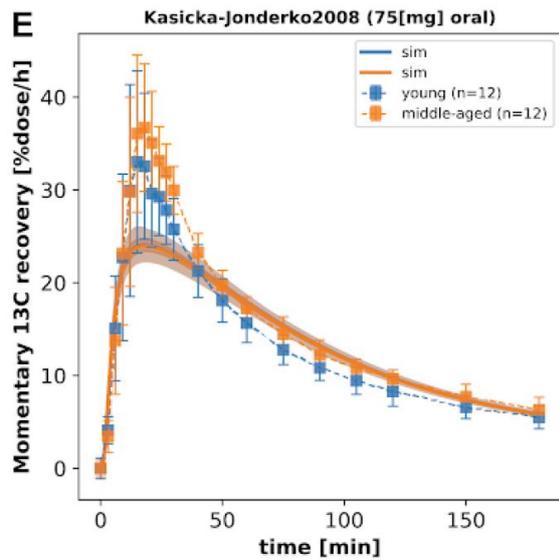


Abbildung 10: Simulation „König 75 mg oral (E): Der Peak bei Minute 20 und das folgende Abklingverhalten werden nicht wiedergegeben. Eine mögliche Erklärung hierfür liefert der Abschnitt: Hypothese zum Unterschied zwischen oraler Verabreichung und IV Verabreichung im Bolus im Zusammenhang mit einem potenziellen Sättigungsverhalten.

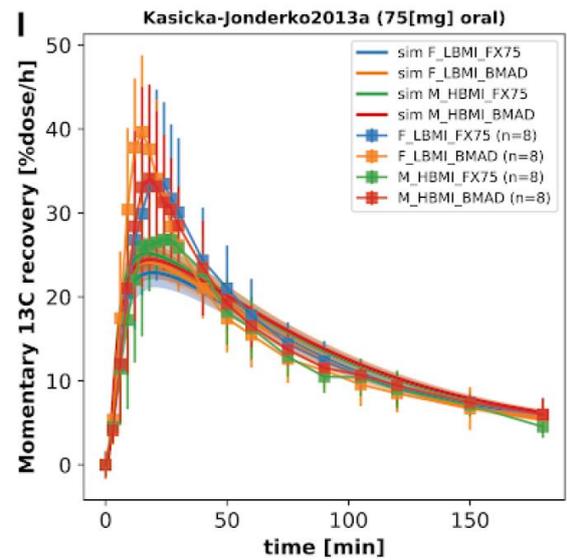


Abbildung 11: Simulation „König 75 mg oral (I): Der Peak bei Minute 20 und das folgende Abklingverhalten werden auch hier nicht wiedergegeben. Die wahrscheinlichste Begründung ist die gleiche Hypothese wie im Zusammenhang mit Abbildung 10.

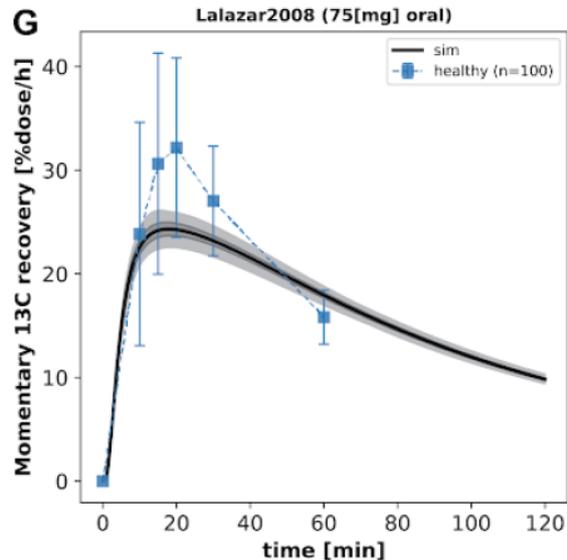


Abbildung 12: Simulation „König 75 mg oral (G): Der Peak bei Minute 20 und das folgende Abklingverhalten werden auch hier nicht wiedergegeben. Die wahrscheinlichste Begründung ist die gleiche Hypothese wie für Abbildung 10.

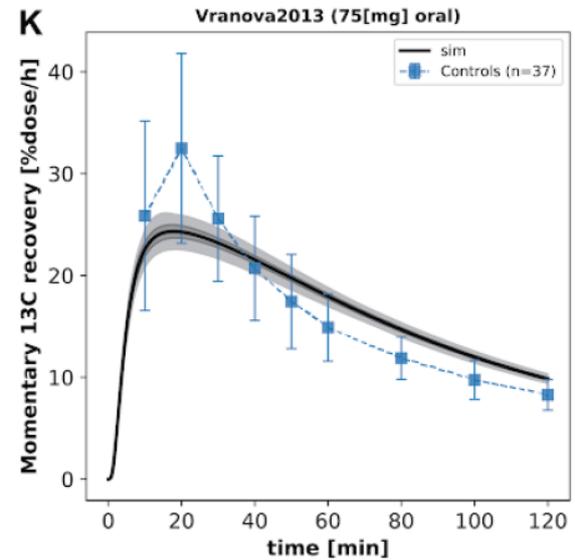


Abbildung 13: Simulation „König 75 mg oral (K): Der Peak bei Minute 20 und das folgende Abklingverhalten werden auch hier nicht wiedergegeben. Die wahrscheinlichste Begründung ist die gleiche Hypothese wie für Abbildung 10.

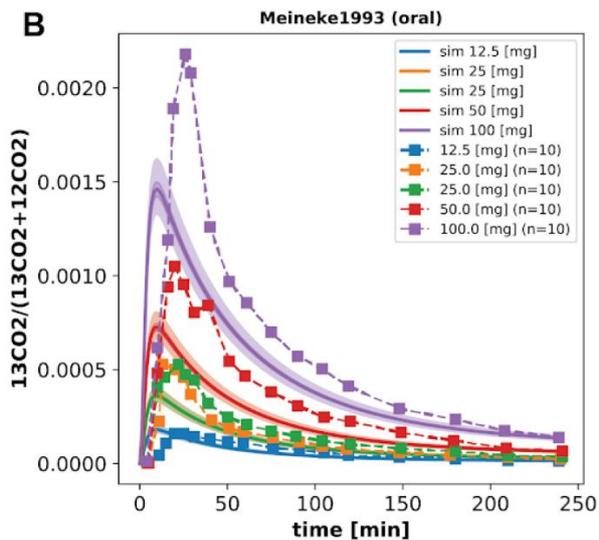


Abbildung 14: Dargestellt sind Messwerte und Simulationen der DOB-Werte (nicht in Promille, sondern als Anteil von 1) nach oraler Einnahme von Natrium-Bikarbonat. Der simulierte Anstieg ist zu steil, was darauf hinweist, dass die Verzögerung durch den Magendarmtrakt in der Simulation zu gering gewählt sein könnte. Außerdem sind alle simulierten Werte niedriger, als die gemessenen, was ein Hinweis darauf ist, dass die Gesamtgröße des Bikarbonatpools im Modell zu groß angesetzt sein könnte.

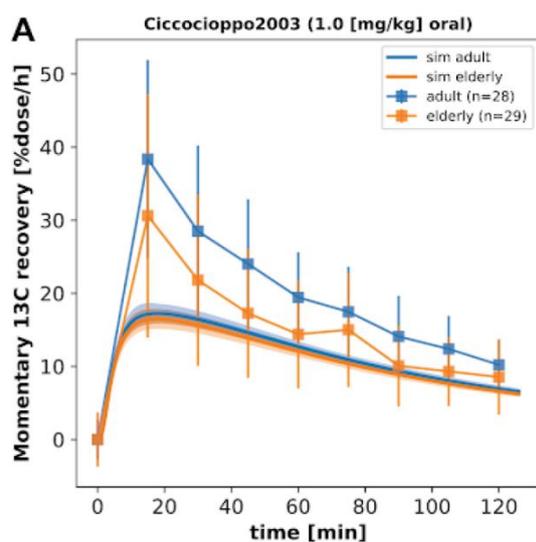


Abbildung 15: Hier sind die simulierten Werte niedriger als die gemessenen Werte. Das Verhältnis hierbei ist ähnlich wie in Abbildung 14, was ebenfalls ein Hinweis darauf ist, dass die Gesamtgröße des Bikarbonatpools im Modell zu groß angesetzt sein könnte. Ein solcher Unterschied wäre z.B. aufgrund der potenziell starken Abweichungen zwischen abgeschätzter und realer Absolutmenge des ausgeatmeten CO₂ plausibel.

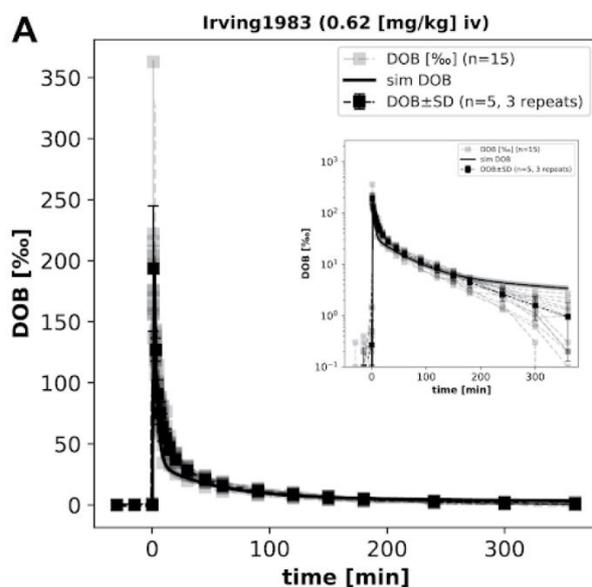


Abbildung 16: Dargestellt ist das Abklingen der Bikarbonatkonzentration im Blut (BMC) bei Bolus-Injektion sowie die entsprechende Simulation. Es ist erkennbar, dass die Simulation in der ersten Viertelstunde deutlich schneller abklingt. Im eingesetzten Bild ist außerdem zu erkennen, dass der Verlauf zum Ende der Messzeit hin deutlich langsamer abklingt.

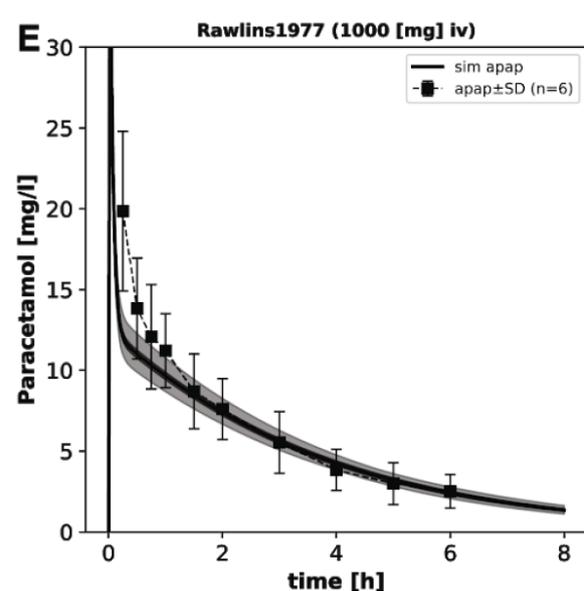


Abbildung 17: Dargestellt ist das Abklingen der Paracetamolkonzentration im Blut (BPC) bei Bolus-Injektion sowie die entsprechende Simulation. Auch hier ist erkennbar, dass die Simulation in der ersten Viertelstunde deutlich schneller und zum Ende hin deutlich langsamer abklingt, in Analogie zu Abbildung 16.

Es ist nicht auszuschließen, dass bei der Bestimmung der Serumspiegel von Methacetin, Paracetamol und Bikarbonat mittels Massenspektroskopie, die typischen bei dieser Methode auftretenden Querempfindlichkeiten für eine nicht vernachlässigbare Skalierung dieser Messwerte sorgen. Eine weitere mögliche Begründung für die Abweichungen zwischen den gezeigten Simulationen und den entsprechenden Messwerten wäre die Vernachlässigung eines Sättigungsverhaltens der Extraktionsrate, sofern dieses existiert. Entsprechend ist die gründliche Untersuchung der Existenz und ggf. die Quantifizierung eines solchen Sättigungsverhaltens der Methacetinextraktionsrate im Rahmen dieser Arbeit motiviert.

Weitere mögliche Ursachen sind Variationen in der CO₂-Produktion, Umverteilungsdynamik und Abatmung. Auch deren Einfluss wird im Rahmen dieser Arbeit untersucht.

Der „2DOB“-Ansatz von Holzhütter et al. beruht darauf, diese CO₂-Dynamik (Umverteilung und Abatmung) mit einer vor dem eigentlichen LiMAX-Test stattfindenden Bikarbonatinjektion direkt am gleichen Probanden zu messen und wird kurz 2DOB-Test genannt (29).

6.2.3 Der 2DOB-Test zur Berücksichtigung der individuellen und aktuellen Bikarbonat-Dynamik

Zur Berücksichtigung der individuellen Bikarbonat-Dynamik wird beim 2DOB-Test dem Probanden nach etwa fünfminütiger Aufnahme der „Baseline“ des DOB-Wertes das ¹³C-Bikarbonat intravenös und im Bolus injiziert und die Abatmung des entstandenen ¹³CO₂-Überschusses vermessen. Diese Daten dienen bei diesem Testverfahren dann später der Auswertung, da sie ein indirektes Maß der CO₂-Produktion, Umverteilungsdynamik und Abatmung darstellen.

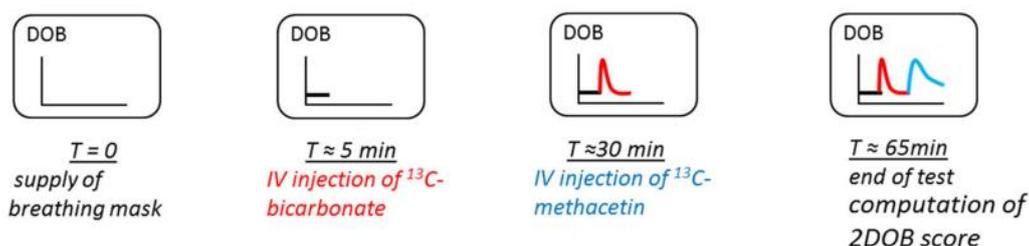


Abbildung 18: 2DOB-Test nach Holzhütter et al. Ref: (29). Der Test-Ablauf ist im Text detailliert beschrieben.

Nach insgesamt 30 Minuten wird dann der LiMAX-Test begonnen, allerdings ohne die typische längere Aufnahme der Baseline. Somit sollte eine weitere Verbesserung des im Vergleich zum herkömmlichen oralen MBTs bereits hervorragenden LiMAX-Tests erzielt in Bezug auf die inter- und intraindividuelle Vergleichbarkeit angeht.

6.3 ZUSAMMENFASSUNG DER WICHTIGSTEN PUNKTE DER EINLEITUNG BEZÜGLICH DER FRAGESTELLUNG DIESER ARBEIT

In Abschnitt 6.1 wurde neben anderen Methoden zur Einschätzung der Leberfunktion insbesondere der LiMAX-Test erklärt. Die wichtigsten Messgrößen wurden definiert und die im Zusammenhang mit dieser Arbeit stehenden und bereits bekannten Herausforderungen wurden vorgestellt. Der LiMAX-Test sowie medizinisch-biologische Einflussfaktoren auf diesen Test sind das zentrale Thema dieser Arbeit. Er wurde bei den drei Studien im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt. Diese Studien sind:

1. Die retrospektive Analyse von 10100 DOB-Kinetiken mit dem LiMAX-Test
2. Die retrospektive Studie der Überwachung chemotherapieassoziiertes Leberschädigung mittels LiMAX-Test
3. Die „Dosis-Sport-Studie“ zur Bestimmung des Einflusses von der Methacetin-Dosis und von übermäßiger Bewegung der Probanden auf die DOB-Werte beim LiMAX-Test.

Sie werden im nächsten Abschnitt (dem Methodikteil) detailliert beschreiben.

Ferner wurden Simulationen von DOB-Kinetiken nach dem aktuellen Stand der Technik in Abschnitt 6.2 vorgestellt. Sie berücksichtigen die in dieser Arbeit untersuchten Sättigungseffekte nicht. Sie stimmen zwar im Rahmen der angegebenen Unsicherheiten mit den experimentellen Daten überein, weisen aber auch deutliche Abweichungen auf, die potenziell erheblich verringert werden könnten, sofern etwaige Sättigungseffekte berücksichtigt würden. Der Bezug zu dieser Arbeit ist allerdings nicht nur durch den Kenntnisgewinn über das potenzielle Sättigungsverhalten gegeben, sondern es werden hier auch wichtige Teilaspekte dieser Simulationsmodelle, wie der zeitliche Verlauf der Methacetinkonzentration im Blut und die entsprechende Metabolisierungsrate bestimmt. Sie werden mittels Fitroutinen (Lmfit: High-Level-Schnittstelle für nichtlineare Optimierung und Kurvenanpassungsprobleme für Python) und der Methoden der Faltung und Entfaltung angepasst, welche ebenfalls im folgenden Abschnitt (dem Methodikteil) beschreiben werden.

7 METHODIK

7.1 DAS FLIP-GERÄT (FAST LIVER INVESTIGATION PACKAGE)

Das FLIP-Gerät (kurz FLIP) wurde zur Aufnahme der deutlichen Mehrheit aller in diese Arbeit einfließenden DOB-Kinetiken verwendet. Ein geringer Anteil der DOB-Kinetiken wurde mit einem zur Onlinemessung modifizierten Gerät der Firma Fischer Analyse Technik namens FANci2 vermessen. Die Funktionsweise des FANci2 und die nötigen Modifikationen sind ausführlich in der Literatur beschrieben (40) (27).

Neben dem MBT und LiMAx-Test werden diese Geräte in der klinischen Routine noch für den ^{13}C -Harnstoff-Atemtest zum genauen Nachweis der bakteriellen Besiedlung des Magens mit *Helicobacter pylori* (41) (42) verwendet. Weitere Tests beispielsweise anderer Organfunktionen sind künftig unter Verwendung angepasster Diagnostika denkbar.

Das Messverfahren ist in meiner Diplomarbeit zur Entwicklung des FLIP-Prototypen ausführlich beschrieben (15). Das FLIP löst die Aufgabe, die Änderungen des Verhältnisses der Gaskonzentrationen von $^{12}\text{CO}_2$ und $^{13}\text{CO}_2$ in der Ausatemluft von Probanden mit einer relativen Unsicherheit genauer als ein Promille zu bestimmen, wobei es eine schnelle und kontinuierliche Erhebung der Messwerte mit einer Mittlungszeit von 30 s ermöglicht. Die angestrebte DOB-Auflösung besser 1 ‰ wurde in der Einführung (Abschnitt 6) motiviert. Die schnelle Zeitauflösung ermöglicht die möglichst exakte Bestimmung des DOB-Maximums, welches zur Berechnung des LiMAx-Wertes benötigt wird. Sie ermöglicht aber somit auch eine genaue Analyse der Kurvenform der DOB-Kinetik und damit die Verwendung der in dieser Arbeit vorgestellten und untersuchten Methoden zur Validierung und Verbesserung der Auswertung.

Das FLIP-Gerät misst neben dem Isotopenverhältnis auch die absoluten Konzentrationen von $^{13}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$ direkt in der Ausatemluft. Das ist möglich, da als Lichtquelle ein DFB-QCL (Distributed Feedback Quantum Cascade Laser) mit einer schmalbandigen Emission verwendet wird. Ferner wird eine spezielle passive Aufbereitung des Atemgases mittels einer Mischkammer verwendet, wobei weder Pumpen noch aktiv gesteuerte Ventile benötigt werden. Teile der Mischkammer sind mit einer wasserpermeablen Membran versehen. So wird die störende Luftfeuchtigkeit der Atemgasprobe gesenkt, wobei ihr CO_2 -Gehalt nicht merklich beeinflusst wird.

Unter Verwendung des integrierten Spirometers (Messgerät des Gasflusses) kann mit dem FLIP-Gerät auch die Atemfrequenz und insbesondere das Atemzeitvolumen gemessen werden. Das Produkt aus Atemzeitvolumen und CO_2 -Konzentration liefert die abgeatmete

CO₂-Gesamtmenge (CO₂-Produktion). Wie in der Einleitung beschrieben wird sie herkömmlich mit oftmals großem Fehler abgeschätzt und nicht direkt gemessen, ist aber aus wissenschaftlicher Sicht erheblich für das Testergebnis und sämtliche Modelle sowie bei der Berechnung der prozentualen Erholungsrate CUM (Abschnitt 6.1.3).

Eine entsprechende Skizze zum Aufbau des FLIP-Gerätes ist in Abbildung 19 zu finden.

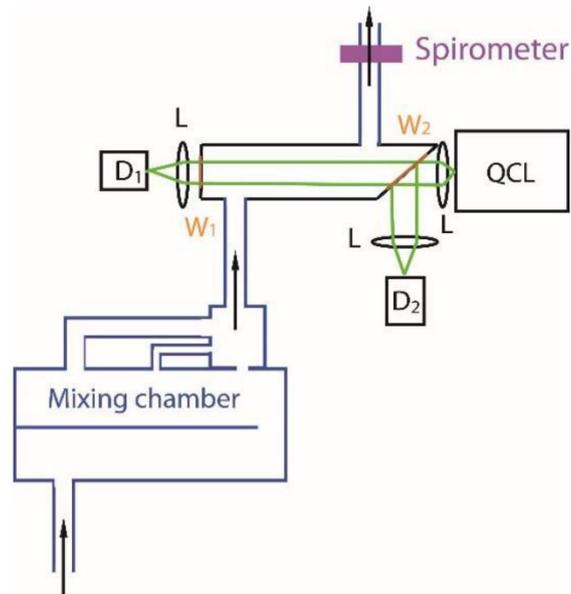


Abbildung 19: Skizze der Einheit aus Laser (QCL), Linsen (L), Messkammer und Detektoren (D1, D2) zusammen mit dem Spirometer und der Mischkammer des FLIP-Gerätes.

Eine detaillierte Beschreibung des Verfahrens und der Messgenauigkeit des FLIP-Gerätes wurden im Artikel: „*Liver Status Assessment by Spectrally and Time Resolved IR Detection of Drug Induced Breath Gas Changes*“ publiziert (43). Die im Rahmen dieser Arbeit hierfür entstandenen und für die weiteren Betrachtungen relevanten Ergebnisse werden in Abschnitt 8.1 beschrieben. Sie stehen im Zusammenhang mit der Möglichkeit die DOB-Werte und hier insbesondere die CO₂-Produktion der Testperson direkt und hinreichend genau zu vermessen.

7.2 ANALYSE VON 10100 KINETIKEN (MESSPROTOKOLL UND PROBANDENKOLLEKTIV):

In einer retrospektiven Studie wurden die DOB-Kinetiken von 10100 Messungen analysiert mit dem Ziel, die Sensitivität und Spezifität des Tests weiter zu verbessern. Ferner sollte geprüft werden, inwieweit sich die Testdauer ohne Nachteile verkürzen lässt. Es wurden die Daten der Messungen aus acht verschiedenen Zentren aus den folgenden Städten verwendet: Aachen, Berlin, Hannover, Heidelberg, Homburg, Jena, Leipzig und Würzburg.

Beim Testprotokoll handelt es sich um das routinemäßig eingesetzte LiMAX-Testprotokoll:

Die mindestens 6 Stunden nüchterne Testperson nimmt eine liegende Position ein und bekommt eine Atemmaske aufgesetzt. Die Atemmaske ist so beschaffen, dass die Luft auf einem sehr kurzen Weg direkt hineingelangt und auf einem anderen Weg wieder hinausgelangt. Die Atemgasproben werden am Maskenausgang dem Luftstrom entnommen und mit einem der folgenden Geräte vermessen: 1: „FLIP“ von Humedics GmbH; 2: „FANci2“ von Fischer Analyse Technik.

Zunächst wird etwa 10 Minuten die Baseline gemessen, also das $^{13}\text{CO}_2$: $^{12}\text{CO}_2$ -Isotopenverhältnis in der Ausatemluft der Testperson zu Beginn des Tests. Anschließend werden 2 mg ^{13}C -markiertes Methacetin pro kg Körpergewicht im Bolus intravenös verabreicht, wobei es in Lösung vorliegt (200 mg Methacetin, 1500 mg Propylenglycol, 50 mg H_2O , NaOH bis ein pH-Wert von 8,2 – 8,5 erreicht wird). Die Injektion erfolgt in weniger als einer Minute über eine Venenverweilkanüle, über die anschließend noch 20 mg isotonische Kochsalzlösung nachgegeben werden. Dieser Punkt ist wichtig, da so ein möglichst reproduzierbares zeitliches Verhalten der Methacetinkonzentration im Blut (BMC) realisiert wird.

In den darauffolgenden 60 Minuten werden mit möglichst hoher Zeitauflösung (mit Zeitintervallen von etwa 2 Minuten für das FANci2 oder kontinuierlich für das FLIP-Gerät) die Änderungen des $^{13}\text{CO}_2$: $^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisses gemessen und als DOB-Kinetik aufgetragen.

Es wird sehr darauf geachtet, dass die Testpersonen sich während der gesamten Dauer des Tests möglichst ruhig verhalten. (Die Relevanz dieses Punktes ist ein Aspekt dieser Arbeit.)

Abbildung 20 gibt Auskunft über die Verteilungen von Gewicht, Größe, BMI, Alter und Geschlecht der Testpersonen aller 10100 vermessenen DOB-Kinetiken. In Tabelle 5 wird nochmals nach dem Rauchverhalten unterschieden.

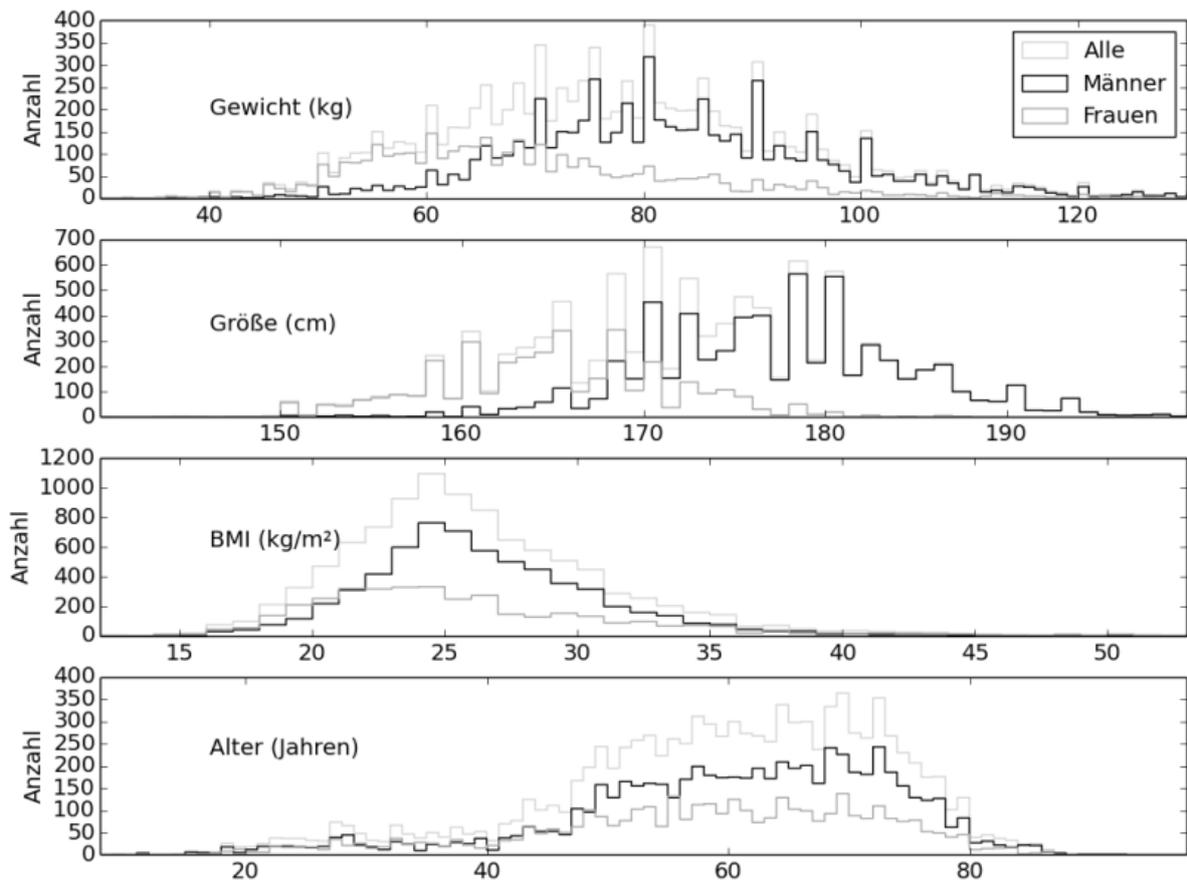


Abbildung 20: Histogramme mit den Verteilungen von Gewicht, Größe, BMI, Alter und Geschlecht bei den 10100 gemessenen DOB-Kinetiken.

	Anzahl	Gewicht (kg)		Größe (cm)		BMI (kg/m²)		Alter (years)	
		Mittel	Intervall	Mittel	Intervall	Mittel	Intervall	Mittel	Intervall
Frauen	3164	71.0	35 - 201	164.5	123 - 197	26.2	12.5 - 71.1	57.1	9.0 - 87.0
nichtrauchend	1313	70.9	35 - 189	164.1	123 - 197	26.3	13.8 - 71.1	58.9	9.0 - 86.0
rauchend	252	70.8	37 - 172	165.1	150 - 187	25.9	15.0 - 64.4	51.9	19.0 - 82.0
andere	1599	71.1	36 - 201	164.8	143 - 186	26.1	12.5 - 69.6	56.5	14.7 - 87.0
Männer	5319	83.2	32 - 196	176.8	144 - 202	26.6	13.5 - 61.9	59.9	11.0 - 92.6
nichtrauchend	2075	83.0	40 - 174	176.8	150 - 200	26.5	13.5 - 56.7	60.3	11.0 - 91.0
rauchend	555	82.3	39 - 180	176.6	152 - 196	26.4	14.3 - 53.5	56.7	18.0 - 86.0
andere	2689	83.6	32 - 196	176.9	144 - 202	26.7	15.0 - 61.9	60.3	11.8 - 92.6
Alle	8483	78.7	32 - 201	172.2	123 - 202	26.4	12.5 - 71.1	58.9	9.0 - 92.6

Tabelle 5: Charakteristika der Probanden aufgeteilt nach Rauchenden und Nichtrauchenden. Bei der Angabe andere, wurde keine eindeutige Angabe zum Rauchverhalten hinterlegt.

7.3 RETROSPEKTIVE STUDIE DER ÜBERWACHUNG CHEMOTHERAPIE-ASSOZIIERTER LEBERSCHÄDIGUNG MITTELS LiMAX-TEST

Die Chemotherapie von kolorektalen Lebermetastasen vor einer Leberteilresektion birgt das Risiko einer chemotherapieassoziierten Leberschädigung, die zu einer erhöhten postoperativen Morbidität und Mortalität führt. Die Studie erfolgte in Form einer retrospektiven Analyse der Testergebnisse von 204 Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen. Bei ihnen erfolgte die präoperative Beurteilung der Leberfunktion mittels LiMAX-Test und biochemische Parameter vor der Resektion der Leber. Von den Patienten erhielten 127 in diesem Zusammenhang eine Chemotherapie. Die weiteren 77 Patienten ohne Chemotherapie galten als Kontrollgruppe. Weitere Details sowie die Ergebnisse dieser Studie wurden im Artikel „LiMAX Test improves Diagnosis of Chemotherapy-associated Liver Injury before Resection of Colorectal Liver Metastases“ publiziert (44). Im Rahmen dieser Arbeit wird diese Studie insbesondere als konkretes Anwendungsbeispiel für die hohe Sensitivität des LiMAX-Tests auf bereits frühe Veränderungen der individuellen Leberleistung im Abschnitt 8.3. präsentiert.

7.4 EINFLUSS VON DER METHACETIN-DOSIS UND VON ÜBERMÄßIGER BEWEGUNG DER PROBANDEN „DOSIS-SPORT-STUDIE“

Zur Klärung der Frage, ob es zu merklichen Sättigungseffekten kommt, wurde der Einfluss der verabreichten Dosis untersucht. Aus dem klinischen Alltag war bereits bekannt, dass Bewegungen der Testpersonen zu einem verfälschten Ergebnis in Form einer plötzlichen Verminderung der DOB-Werte führen können. Zur Quantifizierung dieses Einflusses kam es zu zwei Variationen des Test-Protokolls. Die Details werden im Folgenden beschrieben.

7.4.1 Testprotokolle für D1 bis D5

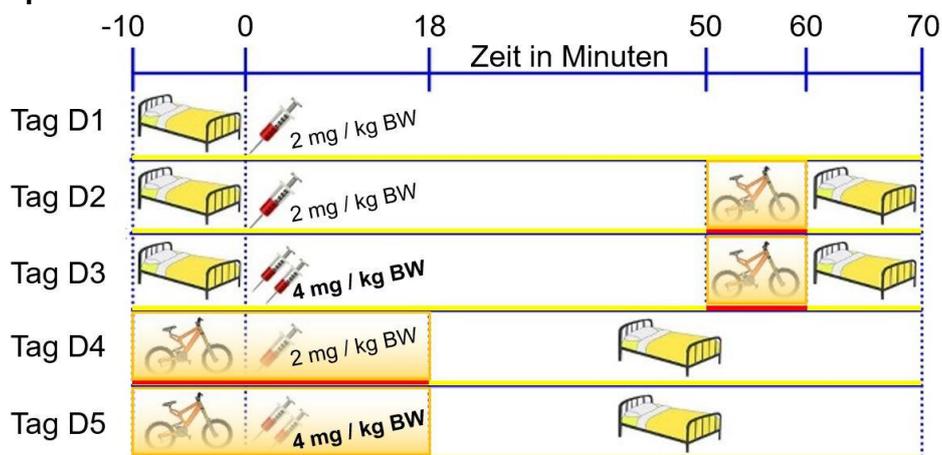


Abbildung 21: Veranschaulichung der Testprotokolle zur „Dosis-Sport-Studie“. Dargestellt werden Phasen der Ruhe und der körperlichen Ertüchtigung für die jeweiligen 5 Testtage sowie die IV verabreichte Dosis ¹³C-Methacetin.

Die Testpersonen haben an fünf verschiedenen Tagen mit jeweils ausreichendem Abstand dazwischen an fünf entsprechenden Tests teilgenommen. Je nach Testprotokoll wurden die Tage mit „D1“ bis „D5“ benannt (siehe hierzu Abbildung 21). Am Tag D1 wurde der Test standardmäßig durchgeführt. Die Probanden befanden sich kontinuierlich in Ruhe und es wurde eine „einfache“ Dosis ^{13}C -markiertes Methacetin in Höhe von 2 mg pro kg Körpergewicht (BW) intravenös im Bolus injiziert. An den weiteren Versuchstagen kam es zur körperlichen Ertüchtigung. Hierfür verwendeten die Testpersonen in den angegebenen Intervallen ein Fahrrad-Ergometer, wobei die Belastung so variiert wurde, dass sie zum 1,9-fachen des jeweiligen Ruhepuls führte. An den Tagen D2 und D3 wurde erst 50 Minuten nach der Injektion mit dem Sport begonnen und nach weiteren 10 Minuten wieder aufgehört. An den Tagen D4 und D5 wurde bereits 10 Minuten vor der Injektion (während der Messung der sogenannten Baseline) mit dem Sport begonnen und 18(1) Minuten nach der Injektion damit aufgehört.

Die Tage D3 und D5 unterschieden sich von D2 und D4 jeweils nur durch die Verdopplung der verabreichten Methacetindosis auf 4 mg pro kg Körpergewicht (BW), wobei darauf geachtet wurde, dass auch hier die Verabreichung „im Bolus“ möglichst genauso schnell wie bei der einfachen Dosis erfolgte (Verabreichungsdauer von etwa 30 Sekunden).

7.4.2 Probandenkollektiv

27 Freiwillige wurden in der Zeit von Oktober bis Dezember 2008 in diese Studie eingeschlossen. Es handelte sich um 4 Frauen und 17 Männer im durchschnittlichen Alter von 28 Jahren (21-47), mit einer durchschnittlichen Größe von 179 cm (162-198), mit einem durchschnittlichen Gewicht von 74 kg (50-98), einem durchschnittlichen BMI von 23 (18,9-29,6) und einer sportlichen Aktivität von 3 (2-5) mal pro Woche. Niemand rauchte.

7.4.3 Verbesserung bezüglich der Auswertung

Wie in Abschnitt 6.1.4.3 beschrieben wurden diese Daten bereits in einer anderen Dissertation ausgewertet und so kam es zu der Aussage, dass es bei gesunden Probanden nicht „langfristig“ zur Sättigung kommt. Allerdings wurden die Datensätze nicht mit hoher Zeitauflösung durch Interpolation analysiert. Dieser Ansatz wird mit einer Schrittweite von sechs Sekunden im Rahmen dieser Arbeit verfolgt und liefert somit die Basis für eine genaue Auswertung, weitere Analysen und entsprechende Schlussfolgerungen.

So wird die DOB-Kinetik mit der Blutumverteilung entfaltet, wie es in Abschnitt 9.6 beschrieben ist. In diesem Zusammenhang wird somit genauer geprüft ob, bezüglich der Frage der Sättigung nicht nur eine qualitative, sondern auch eine quantitative Aussage getroffen werden kann.

7.5 ERHEBUNG UND ANALYSE VON DATEN SOWIE MITTEL ZUR SIMULATION

7.5.1 Verwendete Software, Berechnungsmethoden und Datenformate

Falls nicht anders erwähnt wurde zur Auswertung der Daten immer Python verwendet. Die Software für das FLIP-Gerät wurde in Visual-Basic geschrieben. Daten wurden stets anonymisiert. Das Abspeichern von Datensätzen erfolgte in den folgenden Formaten: CSV: „txt“ und „abs“, Excell: „xls“ und „xlsx“, sowie Python „numpy arrays“: „np“.

Verwendung von frei verfügbaren Python Bibliotheken zur wissenschaftlichen Datenverarbeitung und Datenanalyse:

Die Auswertung, Datenaufbereitung und Simulationen erfolgten mittels eigens in der Programmiersprache Python erstellter Skripte. Dabei wurde von den folgenden frei verfügbaren Python Bibliotheken zur wissenschaftlichen Datenverarbeitung und Datenanalyse Gebrauch gemacht:

NumPy ist eine Open-Source-Erweiterung für Python. Das Modul stellt vorkompilierte Funktionen für die numerische Analyse zur Verfügung. Insbesondere ermöglicht es den einfachen Umgang mit sehr großen, mehrdimensionalen Arrays (Listen) und Matrizen, bietet aber auch viele andere grundlegende Funktionen, wie beispielsweise die Zufallszahlenbildung, Fourier-Transformation und lineare Algebra.

Matplotlib erweitert NumPy um grafische Darstellungsmöglichkeiten in 2D und 3D. In Kombination mit NumPy ist das Modul die am häufigsten verwendete Visualisierungsbibliothek für Python.

Pandas ist eine Bibliothek für die Datenverarbeitung und Datenanalyse mit Python. Sie erweitert Python um Datenstrukturen und Funktionen zur Verarbeitung von Datentabellen wie beispielsweise im Excel-Format, welches viele der beigestellten Datensätze aufwiesen. Pandas ist freie Software (BSD-Lizenz).

SciPy ist ein sehr beliebtes Mathematikmodul für Python, das sich auf mathematische Optimierung konzentriert. Funktionen der linearen Algebra, Differentialrechnung, Interpolation, Signal- und Bildverarbeitung sind in SciPy enthalten.

Lmfit bietet eine High-Level-Schnittstelle für nichtlineare Optimierung und Kurvenanpassungsprobleme für Python. Es baut auf viele der Optimierungsmethoden von `scipy.optimize` auf und erweitert sie. Ursprünglich inspiriert von und benannt nach der Erweiterung der Levenberg-Marquardt-Methode aus `scipy.optimize.leastsq` bietet Lmfit nun eine Reihe nützlicher Erweiterungen für Optimierungs- und Datenanpassungsprobleme und

liefert statistisch relevante Informationen, wie beispielsweise die Unsicherheit der ermittelten Parameter und die entsprechende Standardabweichung.

7.5.2 Fehlerbetrachtung und Unsicherheitsanalyse

Bezüglich der Fehlerbetrachtung und Unsicherheitsanalyse wurde aufgrund des metrologischen Hintergrundes des Autors als Mitarbeiter der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt, der GUM „Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement“ inklusive Anwendung der Monte-Carlo-Methode verwendet. Die Metrologie darf hier nicht mit der „Meteorologie“ also der Wetterkunde verwechselt werden. Es ist die Wissenschaft des Messens und beschäftigt sich mit der Festlegung von international akzeptierten Maßeinheiten, Realisierung von Maßeinheiten durch wissenschaftliche Methoden sowie der Errichtung von Rückführbarkeitsketten durch das Bestimmen und Dokumentieren von Messwerten und deren Genauigkeiten. Als Beispiel sei hier die Realisierung der Sekunde mit einer relativen Unsicherheit ($k=1$) kleiner 2×10^{-16} zu nennen. Der GUM komplettiert das unvollständige Konzept der von Carl Friedrich Gauß übergebenen Fehlerrechnung und ist bei der Erstellung von Kalibrierscheinen von akkreditierten Kalibrierlaboratorien die verbindliche Grundlage zur Ermittlung der Messunsicherheit.

7.5.3 Die in dieser Arbeit verwendete Methoden der Entfaltung und Faltung

Die Entfaltung, auch Dekonvolution genannt, ist eine mathematische Operation, welche unter anderem in der Signal- und Bildverarbeitung angewendet wird. Der umgekehrte Prozess zur Entfaltung wird Faltung oder auch Konvolution genannt. Wird beispielsweise ein Bild durch eine nicht-perfekte optische Linse betrachtet, so kommt es zu den sogenannten Abbildungsfehlern und das entstehende Bild ist verzerrt. Dieses entstehende Bild entspricht der Faltung des originalen Bildes mit der Abbildungsfunktion der Linse. In dieser Arbeit entspricht die zeitabhängige Metabolisierungsrate des Methacetins in der Leber dem, was bestimmt werden soll, also dem originalen Bild. Die gemessene DOB-Kinetik entspricht dem verzerrten Bild. Die Abbildungsfunktion der Linse entspricht der Umverteilung und Abatmung des Bikarbonats in den Blutkompartimenten entsprechend der Hämodynamik.

Zur Bestimmung der Metabolisierungsrate wird die DOB-Kinetik mit der Bikarbonat-Dynamik entfaltet. Aus Plausibilitätsgründen wird somit angenommen, dass die Metabolisierung einer bestimmten molaren Menge Methacetin in einem hinreichend kurzen Zeitintervall (hier 6 Sekunden) aufgrund des dabei entstehenden Bikarbonats in guter Näherung die gleichen Folgen für die DOB-Kinetik hat wie eine direkte Injektion derselben molaren Menge Bikarbonats ins venöse Blut in derselben Zeit.

Ferner wurde vorausgesetzt, dass die Metabolisierungsraten nicht unstetig anwachsen oder abfallen können, da die Injektion des Methacetins einige zehn Sekunden benötigt, das Methacetin anschließend im Blutkreislauf umverteilt wird und nur anteilig (zeitlich verzögert bzw. verschmiert) zur Leber gelangt. Entsprechend wurde auch hier, in Analogie zur Argumentation in Abschnitt 8.5, der Ansatz der Summe aus Exponentialfunktionen gewählt, wobei aufgrund des Prinzips der Massenerhaltung die Summe aller Amplituden gleich Null ist. Anders formuliert muss für ausreichend lange Zeiten die Menge, die hineingelangt ist, gleich der Menge sein, die auch wieder hinausgelangen wird.

7.5.3.1 Pseudocode (Python) für ‚Faltung‘ und ‚Entfaltung‘

Def Faltung (M(t)=Metabolisierung):

```

U(t*)=Umverteilung „ist gegeben“
DOB=zeros(Testdauer) „Array der Größe ‚Testdauer‘ mit Nullen als Einträge“
for t in range(Testdauer):
    for i in range(1, Testdauer-t):
        DOB(t+i) = DOB(t+i) + M(t) x U(i)
return(DOB)

```

Def Entfaltung mit Fit (DOB(t),):

```

Imfit.parameters to fit: Amplituden: A1, A2, A3; Zeitkonstanten: T1, T2, T3
t = range(Testdauer)
M(t) = A1 x exp(-t/T1) + A2 x exp(-t/T2) + A3 x exp(-t/T3)
Imfit.minimize(DOB(t) - Faltung(M(t)))
return(M(t) ‚entsprechend dem besten Fit‘)

```

7.6 ETHIKKOMMISSION

Bei der Auswertung der 10100 DOB-Kinetiken handelt es sich um eine retrospektive Studie, wobei die einzelnen Studien durch die verantwortlichen Ethikkommissionen der zugehörigen Institute: Charité-Universitätsmedizin Berlin, Universitätsklinik Aachen, Universitätsklinik Hannover, Universitätsklinik Heidelberg, Universitätsklinik Homburg, Universitätsklinik Jena, Universitätsklinik Leipzig und Universitätsklinik Würzburg genehmigt wurden. Die Dosis-Sport-Studie wurde von der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt (EA2/061/08). Alle Probanden erhielten ein Informationsblatt und wurden ausführlich über Ablauf, Ziele und mögliche Risiken aufgeklärt. Sie gaben ihr schriftliches Einverständnis und es bestand zu jeder Zeit die Möglichkeit, die Teilnahme an der Studie zu beenden. Vorbereitend zu dieser Studie wurden einzelne MBTs mit über drei Stunden Messdauer (bei oraler und intravenöser Verabreichung der Methacetinlösung) unter oben genannten Bedingungen am Autor dieser Arbeit im Rahmen der Prüfung der Funktion des FLIP-Prototypen unter ärztlicher Aufsicht durchgeführt.

8 ERGEBNISSE UND DISKUSSION

8.1 MESSGENAUIGKEIT DES FLIP-GERÄTS UND VARIATION DER CO₂-KONZENTRATION

Das grundlegende Messverfahren des FLIP-Gerätes wurde in meiner Physik-Diplomarbeit „*Konzeption und Entwicklung eines Infrarot-Spektrometers zur Bestimmung der Konzentration von ¹³CO₂ und ¹²CO₂ im Gasfluss*“ detailliert beschrieben (15). In diesem Abschnitt geht es um den Einfluss und die Messung der absoluten CO₂-Konzentration in der Ausatemluft. Dies ist wichtig im Zusammenhang mit der in dieser Arbeit oft relevanten messbegleitenden Bestimmung der realen CO₂-Produktion der Testperson.

Die CO₂-Konzentration im menschlichen Atem variiert stark und liegt bei normaler Atmung in Ruhe (wie sie laut LiMAX-Testprotokoll vorgeschrieben ist) zwischen 0,02% und 0,06% für ¹³CO₂ und entsprechend bei 2% bis 6% für ¹²CO₂. Hinzu kommt, dass die Luft in den Atemwegen, die bei dem Atemzug nicht am CO₂-Austausch beteiligt war, hauptsächlich aus Umgebungs- bzw. Raumluft besteht. Diese hat eine viel geringere CO₂-Konzentration von 0,001% für ¹³CO₂ bzw. 0,1% für ¹²CO₂.

Bei solch volatilen Konzentrationen im zu analysierenden Gas die relativen Änderungen des Isotopenverhältnisses in Echtzeit mit einer Auflösung besser als ein Promille (1 DOB in ‰) zu bestimmen, stellt eine technische Herausforderung dar. Ferner ist der hohe Wasserdampfgehalt in der Ausatemluft bei der verwendeten Infrarotspektroskopie ein Problem. Zur Minimierung von Wasserdampfeinflüssen und CO₂-Konzentrationschwankungen wurde für das FLIP-Gerät eine spezielle Mischkammer mit wasserpermeabler Membran verwendet. Sie reduziert den Wasserdampfgehalt und durchmischt die ausgeatmete Luft mit geringer CO₂-Konzentration mit der Ausatemluft mit hoher CO₂-Konzentration.

Abbildung 22 zeigt den im Artikel „*Liver Status Assessment by Spectrally and Time Resolved IR Detection of Drug Induced Breath Gas Changes*“ publizierten glättenden Einfluss der Mischkammer auf den gemessenen Konzentrationsverlauf und im Vergleich Messungen ohne Mischkammer. Ferner werden die zugehörigen Volumenströme abgebildet, welche mit dem in das FLIP-Gerät integrierten Spirometer vermessen wurden (43).

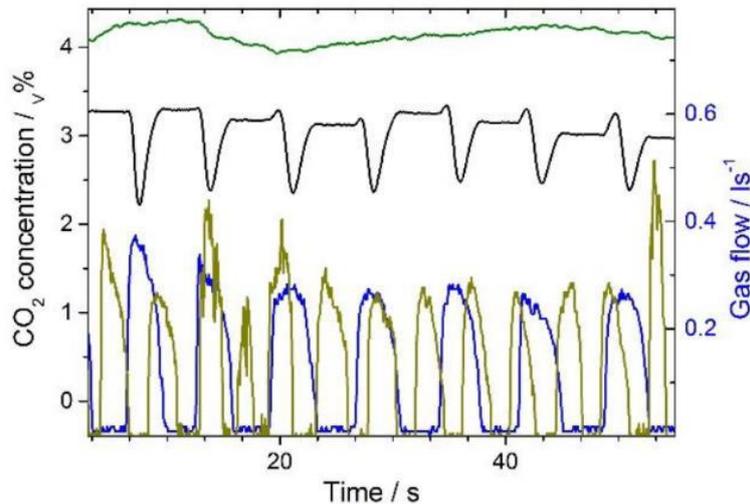


Abbildung 22: Einfluss der FLIP-Mischkammer auf die Schwankungen der CO₂-Konzentration. Der schwarze Graph zeigt den Konzentrationsverlauf in Volumenprozent ohne Mischkammer und der grüne Graph zeigt ihn mit Mischkammer. In blau und ockergelb sind die jeweils zugehörigen Volumenströme dargestellt. Weitere Details über die Funktionsweise des FLIP-Gerätes sowie Beispielmessungen wurden in dem Artikel „Liver Status Assessment by Spectrally and Time Resolved IR Detection of Drug Induced Breath Gas Changes“ publiziert (43).

Neben der Glättung des Konzentrationsverlaufs haben Mischkammer und Spirometer auch einen mittelnden Einfluss auf den Verlauf der Gastemperatur, da beide dazu beitragen, dass das Atemgas möglichst auf Raumtemperatur gebracht wird. (Genau genommen auf die Innentemperatur des sich im Betrieb befindlichen FLIP-Gerätes, welche je nach Außentemperatur um etwa 2 Kelvin höher liegt als die Umgebungstemperatur.) Die Gastemperatur ist ebenfalls relevant für das gemessene Isotopenverhältnis. Die im FLIP verwendeten Laser verfügen bereits vom Hersteller aus über eine Temperaturregelung, da die emittierte Wellenlänge stark von der Lasertemperatur abhängig ist. Zum Erlangen der angestrebten Genauigkeit des DOB-Wertes von einem Promille genügt die handelsübliche Lasersteuerung allerdings nicht. Entsprechend wurde das temperaturabhängige Absorptionsspektrum des Atemgases selbst genutzt, um die Lasertemperatur und die Spannungsrampe zum Durchstimmen des Laserspektrums mit einer aktiven Feedbackregelung zu steuern. Ohne dieses Verfahren änderte sich die Laseremission in der spektralen Breite und Position so, dass die Messwerte typischerweise um etwa 20 Promille schwankten, obwohl die Umgebungstemperatur konstant im Bereich 22 ± 1 °C gehalten wurde.

Wird hingegen die besagte Mischkammer verwendet, so betragen Rauschen und Drift des DOB-Wertes der gemessenen Ausatemluft dank Konzentrations- und Temperaturglättung in Kombination mit der aktiven Regelung der Laseremission weniger als ein Promille bei einer zeitlichen Mittelung über 30 Sekunden. Entsprechend kann auch die CO₂-Produktion mit hoher relativer Genauigkeit von ein bis zwei Prozent ($k=1$) je nach Art der Atmung bestimmt werden.

8.2 TYPISCHE KURVENFORMEN DER DOB-KINETIKEN ANHAND VON 10100

MESSREIHEN

Die Ergebnisse dieses Abschnitts wurden im Artikel „Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous ¹³C-methacetin breath tests“ publiziert (31). Kinetiken entsprechend dem LiMAx-Testprotokoll von 10100 Messreihen wurden für diese retrospektive Studie in sieben Gruppen eingeteilt. Hierfür wurden sieben LiMAx-Intervalle gewählt, welche jeweils einen Zustand der Leber repräsentieren und sich in der Tabelle 1 wiederfinden. Die Resultate der statistischen Analyse sind in Abbildung 23 dargestellt.

8.2.1 „Standardformen“ der DOB-Kinetiken beim LiMAx-Test

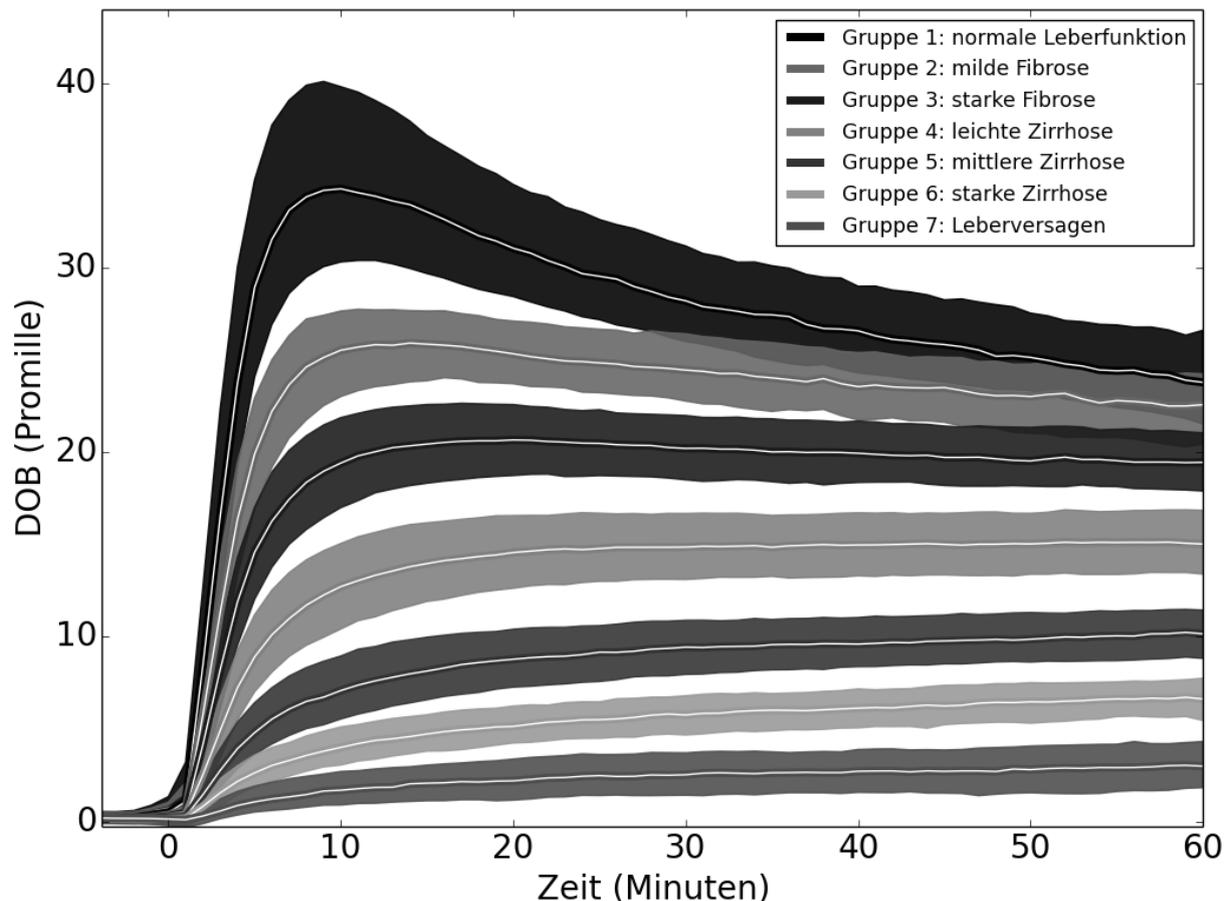


Abbildung 23 (pub. In (31)): DOB-Kinetiken entsprechend der sieben Gruppen aus Tabelle 1 mit zugehörigen Quartilen. Sie sind eindeutig unterscheidbar und weisen je nach Gruppe eine spezifische Dynamik auf. Bei Gruppe 1 bildet sich ein deutlicher Peak etwa 8-9 Minuten nach Injektion aus. Bei Gruppen größer 3 fällt der DOB-Wert innerhalb der Messdauer nicht wieder ab und es lässt sich beispielsweise der Zeitpunkt des Maximums nicht mehr bestimmen. Entsprechend wird hier der maximal erreichte Wert für die Berechnung des LiMAx-Wertes verwendet.

Es ist deutlich zu erkennen, dass nicht nur die Höhe des Maximums mit schlechterem Leberzustand abnimmt, sondern sich auch die komplette Form der Kinetik ändert. So verfügen viele Kinetiken der Gruppe „normale Leberfunktion“ über ein ausgeprägtes Maximum nach

etwa 10 Minuten mit anschließend zügigem und dann langsamer werdendem Abklingverhalten. Dieses ausgeprägte Maximum sowie das zügige Abklingen bleiben bei allen anderen Zuständen der Leber aus. Eine Erklärung hierfür liefert das im Abschnitt 8.9 belegte Sättigungsverhalten.

8.2.2 Dauer bis zum Erreichen des Maximums „T(Max)“

Abbildung 23 verdeutlicht außerdem, dass die Dauer bis zum Erreichen des Maximums „T(Max)“ mit schlechterer Leberfunktion stark zunimmt. Es wurden Überlegungen angestellt T(Max) zur Diagnose heranzuziehen, allerdings war die Korrelation mit der Leberleistung nicht so gut wie die Korrelation zu DOB(Max). Die wahrscheinlichste Ursache dafür, dass T(Max) nicht so gut mit der Leberleistung korreliert wie DOB(Max) liegt in der Streuung der DOB-Messwerte. So wird beim Erreichen des Platous der Zeitpunkt für T(Max) verwendet, bei dem der Messwert am stärksten nach oben streut. Im Beispiel einer Streuung von $\pm 2,5$ DOB für Gruppe 3 kann das jeder zufällige Zeitpunkt zwischen Minute 12 und Minute 60 sein. Hier würde eine geringere Streuung der Messwerte und eine Glättung der Kurve bzw. die Auswertung über eine entsprechende Fitfunktion, wie sie in dieser Arbeit im Abschnitt 8.5 vorgestellt wird, erhebliche Verbesserungen mit sich bringen. Nun kommt noch hinzu, dass sich T(Max) schon bei den Gruppen 3 und 4 nicht mehr gut bestimmen lässt. Bei den Gruppen 5, 6 und 7 wird das Maximum erst deutlich nach den sechzigsten Minuten, also nach Testende, erreicht. Daher scheint die Bestimmung der Dauer bis zur Erreichung des Maximums besonders bei den brisanten Fällen als ungeeignet, denn eine Messdauer länger als eine Stunde möchte man den Patienten mit einer solchen Schwere der Leberschädigung nicht zumuten.

8.2.3 Dauer bis zum Erreichen des halben Maximums „T($\frac{1}{2}$ Max)“

Eine vielversprechende und zügige Alternative wäre hier beispielsweise die Bestimmung der Dauer bis zum Erreichen des halben Maximums wie in Abbildung 24 dargestellt. Bei Gruppe 1: „normaler Leberfunktion“ wird das halbe Maximum bereits nach etwa 3 Minuten erreicht. Bei Gruppe 7: „Leberversagen“ nach über 10 Minuten. Auch wenn bei den schlechteren drei Gruppen des Leberzustandes das tatsächliche Maximum der DOB-Kinetik nicht innerhalb der einstündigen Messdauer nach Injektion des Methacetins erreicht wird, kann als Orientierung der maximal erreichte Wert verwendet werden.

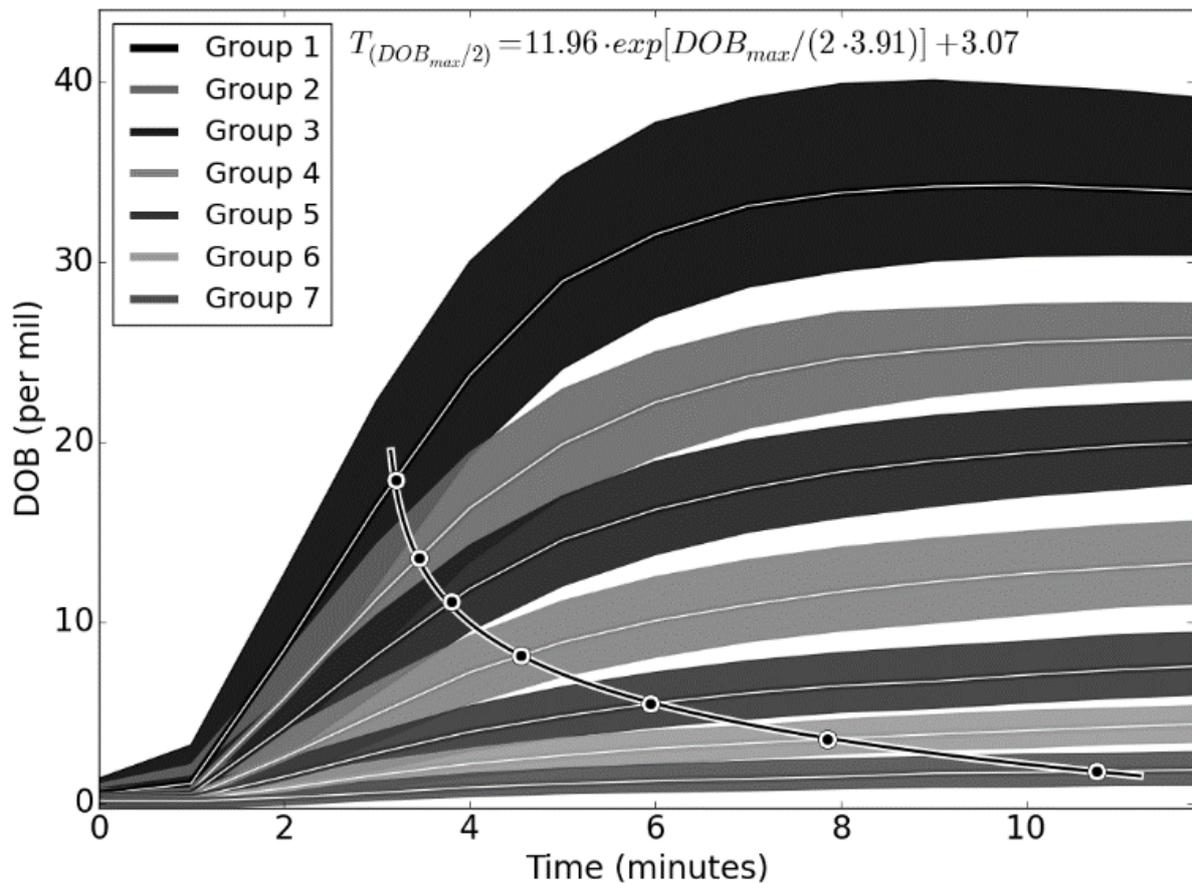


Abbildung 24 (pub. In (31)): Bestimmung der Dauer bis zum Erreichen des halben DOB-Maximums. Es geht deutlich schneller als die Bestimmung der Dauer bis zum DOB-Maximum. Für die Gruppen 4-7 kommt hinzu, dass das tatsächliche Maximum der DOB-Kinetik nicht während der 60-Minuten nach Injektion erreicht wird. Vor allem bei den schlechten Leberzuständen nimmt die Dauer stark zu, was den Parameter $T(\frac{1}{2}Max)$ hier sehr sensitiv macht.

8.2.4 Einflüsse auf die Testvalidität

Bei sämtlichen von mir begleiteten Messungen (über hundert) war es immer ein klares Indiz dafür, dass das Messergebnis nicht valide ist und der Test wiederholt werden sollte, sobald die Form der DOB-Kinetik stark von der für den LiMax-Wert erwartenden Form abgewichen war. Typische Gründe waren hier beispielsweise starke Bewegungen der Probanden, das Verrutschen der Atemmaske, Hyperventilation oder bei bestimmten Messverfahren des DOB-Wertes die Einflüsse von Lachgas oder Sauerstoff (45).

8.2.5 Zusammenhang von DOB-Maximum und LiMax-Wert

Der LiMax-Wert wird nach Formel (3) entsprechend dem DOB-Maximum errechnet. In die Berechnung gehen außerdem Körpergröße und Körpergewicht ein. Entsprechend hängt der statistische Zusammenhang von DOB-Maximum und LiMax-Wert von der statistischen Verteilung von Körpergewicht und Körpergröße ab. In der Literatur gibt es für den

Zusammenhang noch keine Abschätzungen, daher wird nun der entsprechende Durchschnittswert für die oben genannten sieben Gruppen bestimmt.

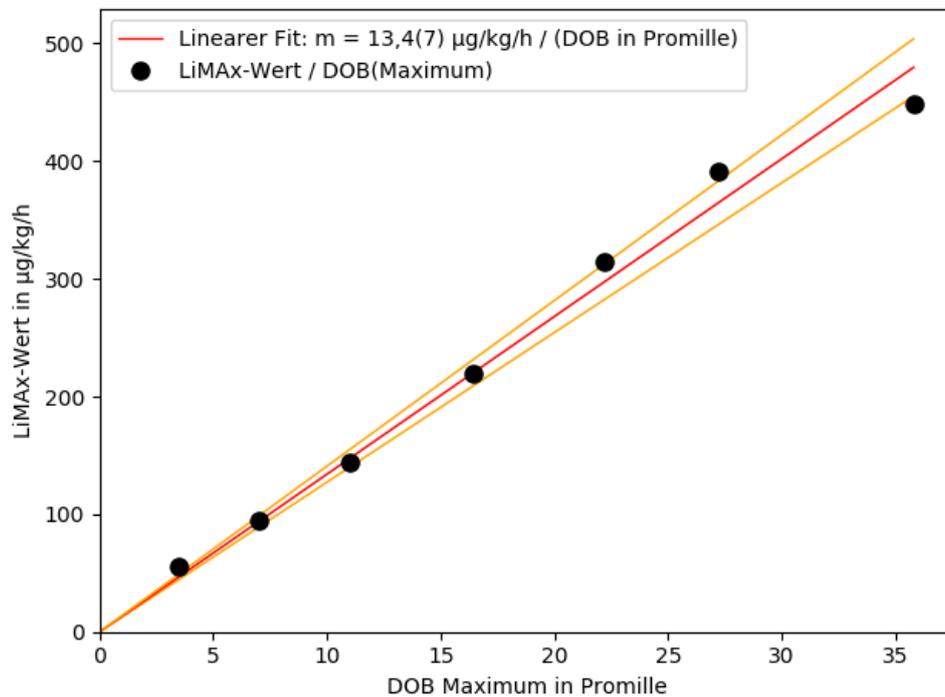


Abbildung 25: Durchschnittlicher Zusammenhang von LiMAX-Wert und DOB-Wert für 10100 Messungen aus dem klinischen Alltag entsprechend der sieben Gruppen aus Ref [10100]. Die Steigung des linearen Fits entspricht 13,4(7) µg/kg/h pro DOB in Promille unter Berücksichtigung des Zwei-Sigma-Intervalls.

Es ergibt sich ein statistischer Zusammenhang von 13,4(4) µg/kg/h pro DOB in Promille unter Berücksichtigung des Ein-Sigma-Intervalls. Dieser kann als Abschätzung für die Genauigkeit des für den LiMAX-Test verwendeten Gerätes herangezogen werden. Das Flip-Gerät beispielsweise hat demnach eine Auflösung besser als 13,4 µg/kg/h. Auch für die nun folgenden Korrelationsbetrachtungen und Ergebnisse ist der bestimmte Zusammenhang von DOB-Maximum und LiMAX-Wert hilfreich.

8.2.6 Vergleich von DOB-Maximum, bzw. LiMAX-Wert mit CUM(t)

In Abschnitt 6.1.3 wurde die „Prozentuale Erholung“ CUM(t) eingeführt. Abbildung 26 zeigt den Korrelationskoeffizient nach Pearson zum Vergleich von CUM(t) als prozentuale Erholung bis zum Zeitpunkt „t“ und DOB-Wert bzw. LiMAX-Wert. Die beste Korrelation ergibt sich nach 20 Minuten. Das ist plausibel, da für spätere Zeiten die individuelle Umverteilung durch die Hämodynamik und die Abatmung des gesamten, im Körper produzierten Kohlenstoffdioxids die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschlechtern.

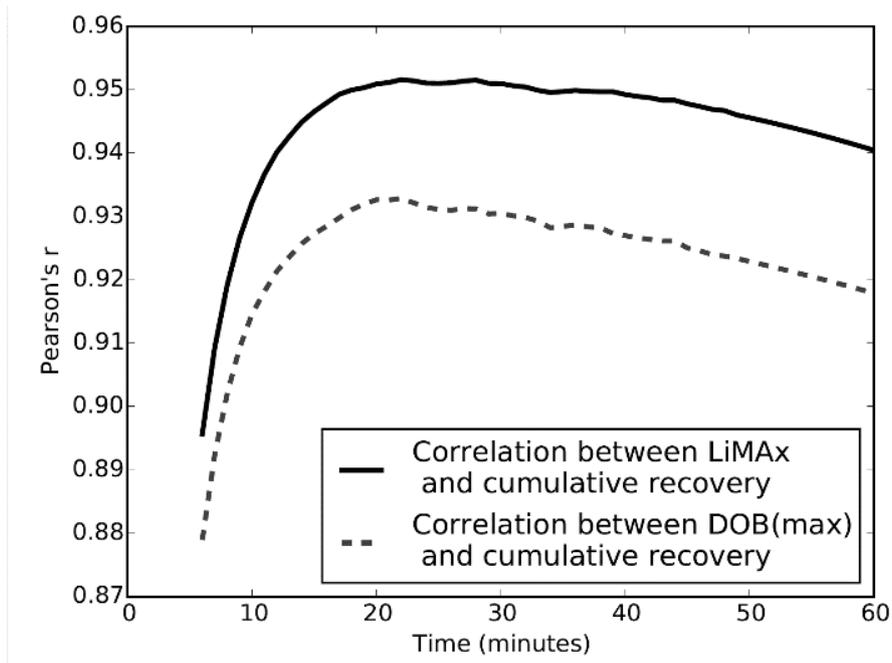


Abbildung 26 (pub. In (31)): Korrelationskoeffizient nach Pearson zum Vergleich von CUM(t) als prozentuale Erholung bis zum Zeitpunkt „t“ und DOB-Wert bzw. LiMAX-Wert. Die beste Korrelation ergibt sich nach 20 Minuten.

Beispielhaft zeigt Abbildung 27 welchen Einfluss die individuelle Umverteilung durch die Hämodynamik und die Atmung haben. Beide Kurven weisen den gleichen Wert für CUM(50 Minuten) auf. Das DOB-Maximum bzw. der LiMAX-Wert unterscheiden sich hingegen deutlich.

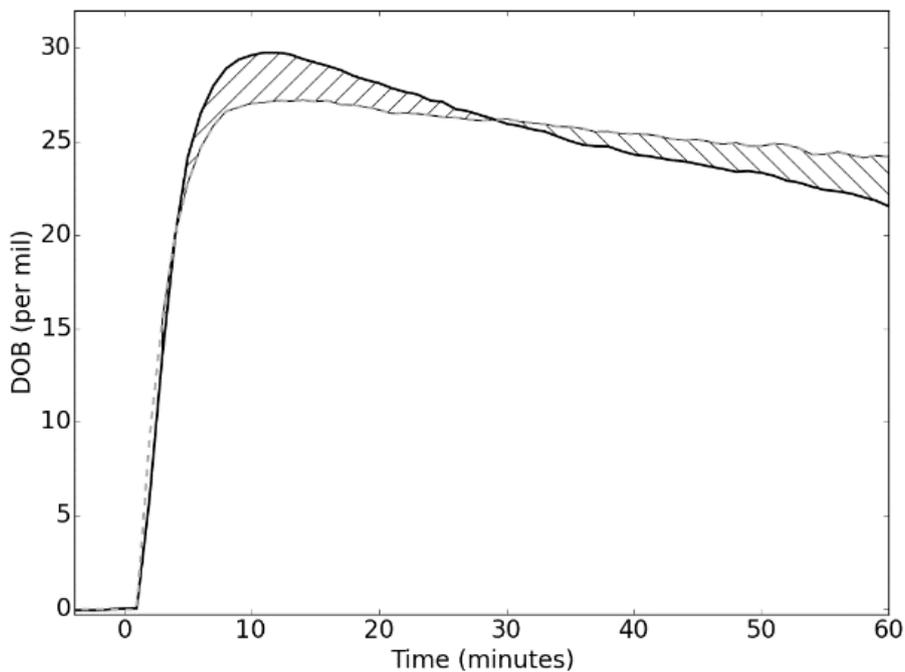


Abbildung 27 (pub. In (31)): Veranschaulichung des Einflusses des Abklingverhaltens des DOB-Wertes auf CUM(t). Beide Kurven weisen den gleichen Wert für CUM(50 Minuten) auf. Das DOB-Maximum bzw. der LiMAX-Wert unterscheiden sich hingegen deutlich.

8.2.7 Einfluss von Alter, Geschlecht, Rauchen, Größe, Gewicht und BMI

Von den messbegleitend dokumentierten Parametern: Alter, Geschlecht, Rauchverhalten, Größe, Gewicht und BMI zeigten nur das Geschlecht und das Rauchen einen merklichen Einfluss auf die Kurvenform. Wie in Abbildung 28 erkennbar zeigten die Kurven für Männer im Vergleich zu denen von Frauen, vor allem bei den Gruppen 1-3, deutliche Unterschiede in Form einer Peakausbildung. Für Rauchende ist die Peakausbildung stärker als bei Nichtrauchenden. Gut erkennbar ist das hier allerdings lediglich für Gruppe 1. Die Ergebnisse sind in guter Übereinstimmung mit den in der Literatur berichteten durchschnittlich um 7% erhöhten DOB-Maxima für Rauchende (27).

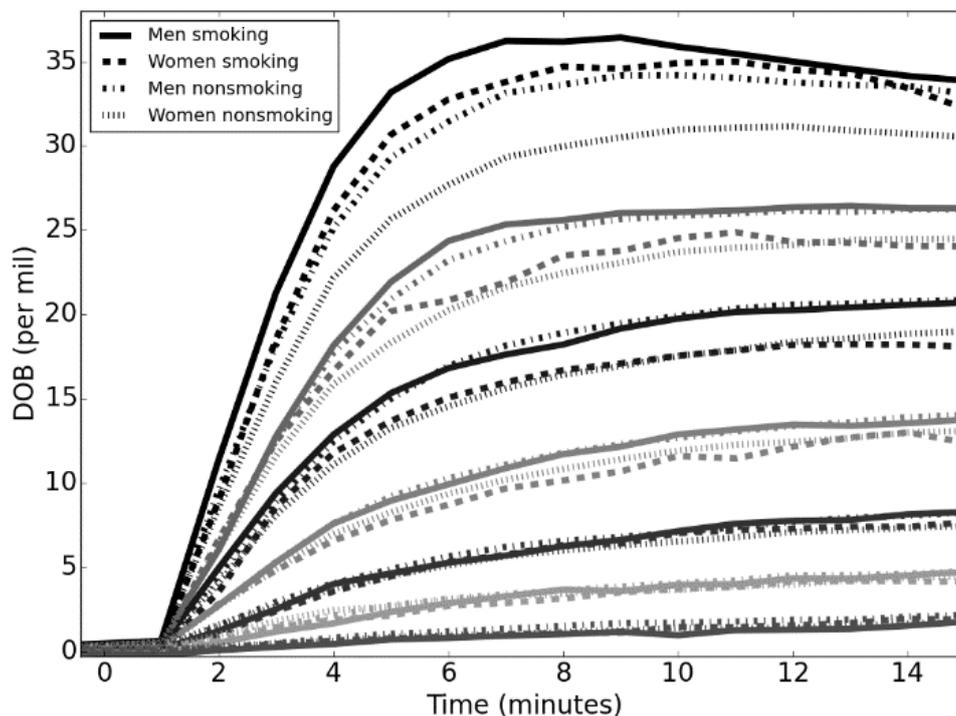


Abbildung 28 (pub. In (31)): Einfluss von Rauchverhalten und Geschlecht auf die Form der Kinetik bei statistischer Auswertung.

8.2.8 Vergleich des LiMax-Wertes mit MELD- und CTP-Score

Die Daten für die beiden Grafiken: Abbildung 29 und Abbildung 30 stammen aus: „*Enzymatic Liver Function Capacity Correlates with Disease Severity of Patients with Liver Cirrhosis: A Study with the LiMax Test*“ (9). Sie verdeutlichen die hohe Sensitivität und Spezifität des LiMax-Tests für bereits kleine Veränderungen der Leberleistung im Vergleich mit den beiden Parametern MELD- und CTP-Score.

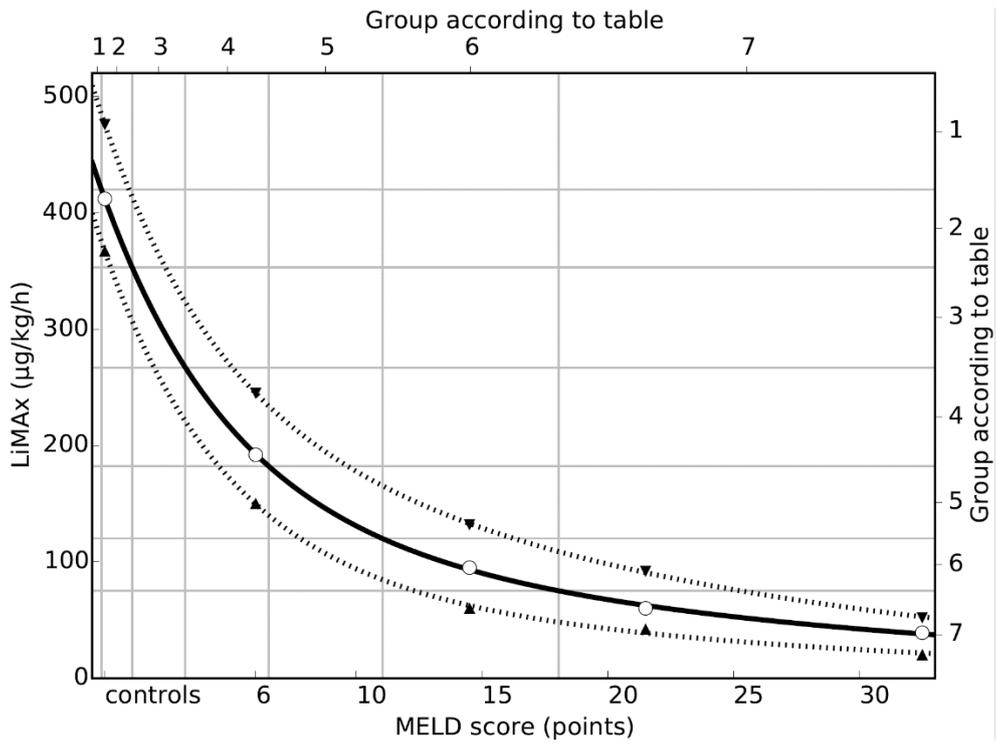


Abbildung 29 (pub. In (31)): Zusammenhang zwischen Meld-Score und LiMAX-Wert entsprechend der 7 Gruppen.

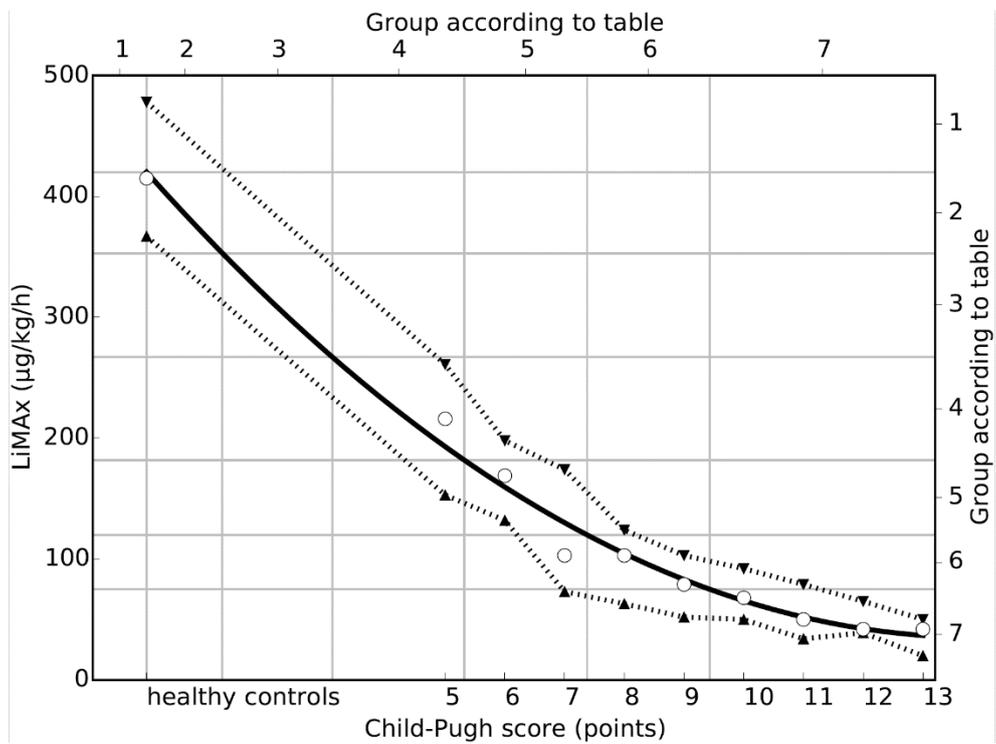


Abbildung 30 (pub. In (31)): Zusammenhang zwischen Child-Pugh-Score und LiMAX-Wert entsprechend der 7 Gruppen.

Die Gruppen 1-3 werden bei den beiden Bewertungssystemen MELD und CTP, wie auch in Abbildung 29 und Abbildung 30 zu sehen ist, noch gar nicht klassifiziert. Entsprechend eignet sich der LiMAx-Test deutlich besser für die Erkennung kleiner bzw. früher Änderungen der individuellen Leberleistung.

Im folgenden Abschnitt wird dieses Ergebnis anhand eines weiteren Beispiels belegt, da sich hier die biochemischen Parameter zur Einschätzung des Leberzustandes bei der angewandten Chemotherapie nicht merklich änderten, im Gegensatz zu den LiMAx-Werten.

8.3 ANWENDUNGSBEISPIEL: ÜBERWACHUNG CHEMOTHERAPIEASSOZIIERTER LEBERSCHÄDIGUNG

Die potenzielle chemotherapieassoziierte Leberschädigung führt im Zusammenhang mit Leberteilresektionen zur erhöhten postoperativen Morbidität und Mortalität. Anhand der retrospektiven Analyse von Messungen an 204 Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen vor Leberteilresektion lässt sich mittels der Auswertung der hier in der präoperativen Routine erhobenen LiMAx-Werte die Sensitivität des Tests auf die mit der Chemotherapie einhergehenden Änderungen der individuellen Leberleistung beurteilen. Die Ergebnisse dieser Studie mit dem Ziel, den LiMAx-Test zur Diagnose einer chemotherapieassoziierten Leberschädigung zu evaluieren, wurden in dem Artikel „*LiMAx Test improves Diagnosis of Chemotherapy-associated Liver Injury before Resection of Colorectal Liver Metastases*“ publiziert (44). Die univariaten und multivariaten Analysen potenzieller Faktoren, welche messbegleitend dokumentiert wurden und den präoperativen LiMAx-Wert beeinflussen könnten, sind hier im Artikel in Tabelle 2 zu finden. Alter und Geschlecht zeigten keinen merklichen Einfluss auf die LiMAx-Ergebnisse.

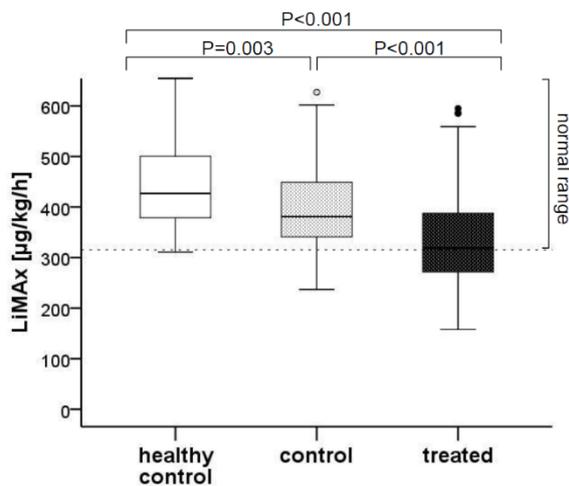


Abbildung 31 zeigt die im Artikel (44) publizierte Grafik der LiMAX-Werte für Gesunde „healthy control“, 77 Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen ohne Chemotherapie „control“ und 127 Patienten mit Chemotherapie (treated). Die Verminderung der Leberleistung entsprechend dem LiMAX-Test, bedingt durch die Chemotherapie, ist deutlich zu erkennen.

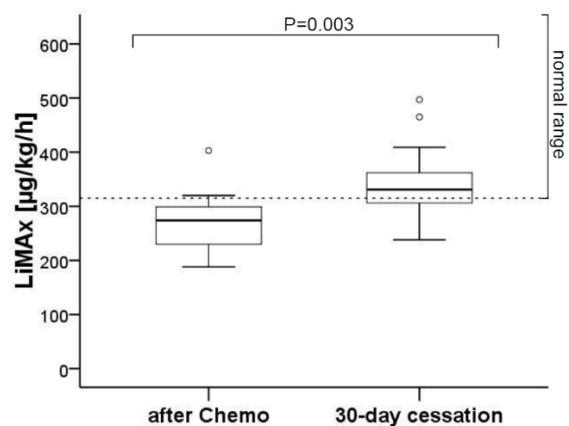


Abbildung 32 zeigt die im Artikel (44) publizierte Grafik der LiMAX-Werte entsprechend der Erholung der Leberleistung, nachdem bei 13 Patienten die Chemotherapie für einen Monat eingestellt wurde. Ein deutliches Anwachsen der LiMAX-Werte ist zu erkennen, was auf die vor der OP benötigte Regeneration der Leber schließen lässt.

Die LiMAX-Werte waren nach der Chemotherapie verschlechtert (340 ± 95 vs. 391 ± 82 $\mu\text{g/kg/h}$; $P < 0,001$) wie in Abbildung 31 dargestellt. Es wurden keine Auswirkungen der Chemotherapie auf die biochemischen Parameter beobachtet. Die LiMAX-Beeinträchtigung war in der multivariaten Analyse abhängig von der Anzahl der Oxaliplatin-Zyklen und dem therapiefreien Intervall. Darüber hinaus war der LiMAX-Wert bei Patienten mit relevanter Steatose, Fibrose und Steatohepatitis verschlechtert. Bei dreizehn Patienten wurde aufgrund ihres verschlechterten LiMAX-Wertes die Operation verschoben und die Chemotherapie zunächst abgesetzt. Bei Ihnen wurde einen Monat nach dem Absetzen ein zweiter LiMAX-Test durchgeführt, welcher eine deutliche Regeneration aufzeigte (272 ± 57 zu 348 ± 72 $\mu\text{g/kg/h}$; $P = 0,003$). Abbildung 32 zeigt den Vergleich der LiMAX-Werte direkt nach der Chemotherapie und nach anschließender, einmonatiger Regenerationszeit ohne Chemotherapie.

Die Ergebnisse belegen, dass der LiMAX-Test die nicht-invasive präoperative Diagnose einer chemotherapieassoziierten Leberschädigung ermöglicht, wobei biochemische Parameter keine merkliche Änderung aufweisen. Die präoperative Durchführung des LiMAX-Tests eignet sich folglich zur Ergänzung für die chirurgische Strategie und die Festlegung des Zeitpunktes der Operation nach vorangegangener Chemotherapie zur Vermeidung einer erhöhten postoperativen Morbidität.

8.4 ERGEBNISSE DER DOSIS-SPORT-STUDIE

In der Dissertationsschrift „Untersuchung von $^{13}\text{CO}_2$ Entstehung, Verteilung und Ausscheidung zur verbesserten Interpretation der Ergebnisse beim ^{13}C -Methacetin Atemtest zur Messung der enzymatischen Leberfunktion“ von Pouria Taheri (2017) wurden die Datensätze der Dosis-Sport-Studie bereits ausgewertet, präsentiert und interpretiert (32). Allerdings unter anderen Gesichtspunkten und mit anderen Techniken als in dieser Arbeit. So wurden die DOB-Werte beispielsweise nur zu den Minuten: 0; 1; 2; 5; 10; 20; 30; 50; 60; 70 betrachtet, indem der jeweils nächstgelegene Messwert verwendet wurde. Abbildung 33 zeigt die DOB-Werte mit einer Zeitauflösung von einer Minute gemittelt für alle Probanden. Hierfür wurde zunächst jede einzelne Messreihe interpoliert und anschließend wurden die Messwerte zu jeder Minute gemittelt.

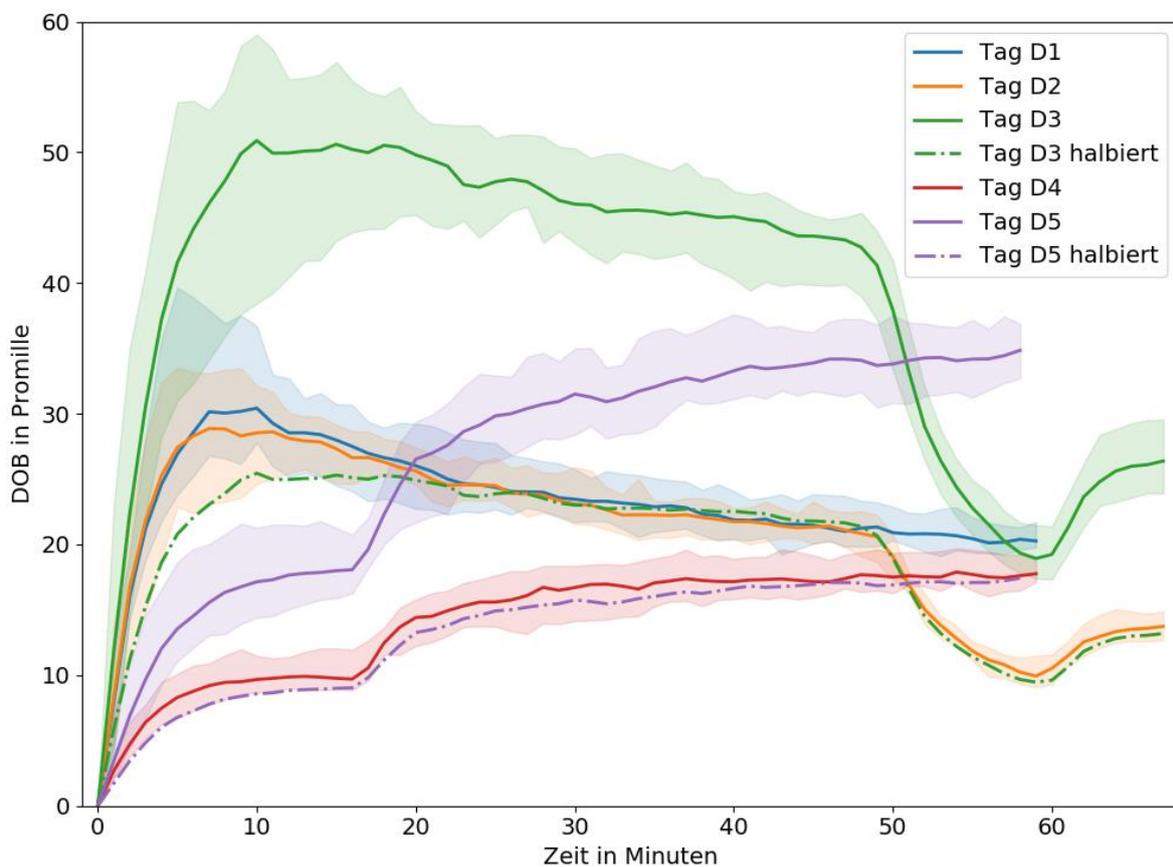


Abbildung 33: DOB-Werte der Dosis-Sport-Studie (gemittelt für den jeweiligen Versuchstag D1-D5 über alle Probanden). Die gestrichelten Werte wurden entsprechend der doppelten Dosis an den Tagen D3 und D5 halbiert, damit sie direkt mit den Werten für die Tage D2 und D4 verglichen werden können. Details zu den Protokollen finden sich in Abbildung 21 und hier im Text. Bemerkenswert ist der Unterschied zwischen den Werten von D3 halbiert und D2 in den ersten zwanzig Minuten, der bereits auf einen Sättigungseffekt hinweist.

Diese hohe Zeitauflösung ist für die in Abschnitt 8.8 folgende Entfaltung notwendig und wurde hierfür nochmal mittels linearer Interpolation künstlich auf 6 Sekunden erhöht.

Wie in Abschnitt 7.4 beschrieben wurden messbegleitend die Blutkonzentrationen für Methacetin und Paracetamol bestimmt (siehe Abbildung 34). Aufgrund von typischen Querempfindlichkeiten der verwendeten Techniken zur Bestimmung der Serum-Spiegel ist es möglich, dass die y-Achse evtl. neu skaliert werden müsste. Deshalb ist hier die Einheit $\mu\text{g}/\text{ml}$ einem „*“ markiert worden. Einen Hinweis darauf lieferte der Zusammenhang des nahezu gleichen Abklingverhaltens der Bikarbonatkonzentration im Blut und der Methacetinkonzentration im Blut jeweils nach IV Bolusinjektion einer wohl definierten molaren Menge je kg Körpergewicht ins venöse Blut, dargestellt in Abbildung 36. Die Serumspiegel sind allerdings sehr wichtige Eingangsparameter für physiologisch plausible Simulationsmodelle, wie beispielsweise das von König et al. aus Abschnitt 6.2.2 und sollten idealerweise zusätzlich mit unabhängigen Methoden verifiziert werden.

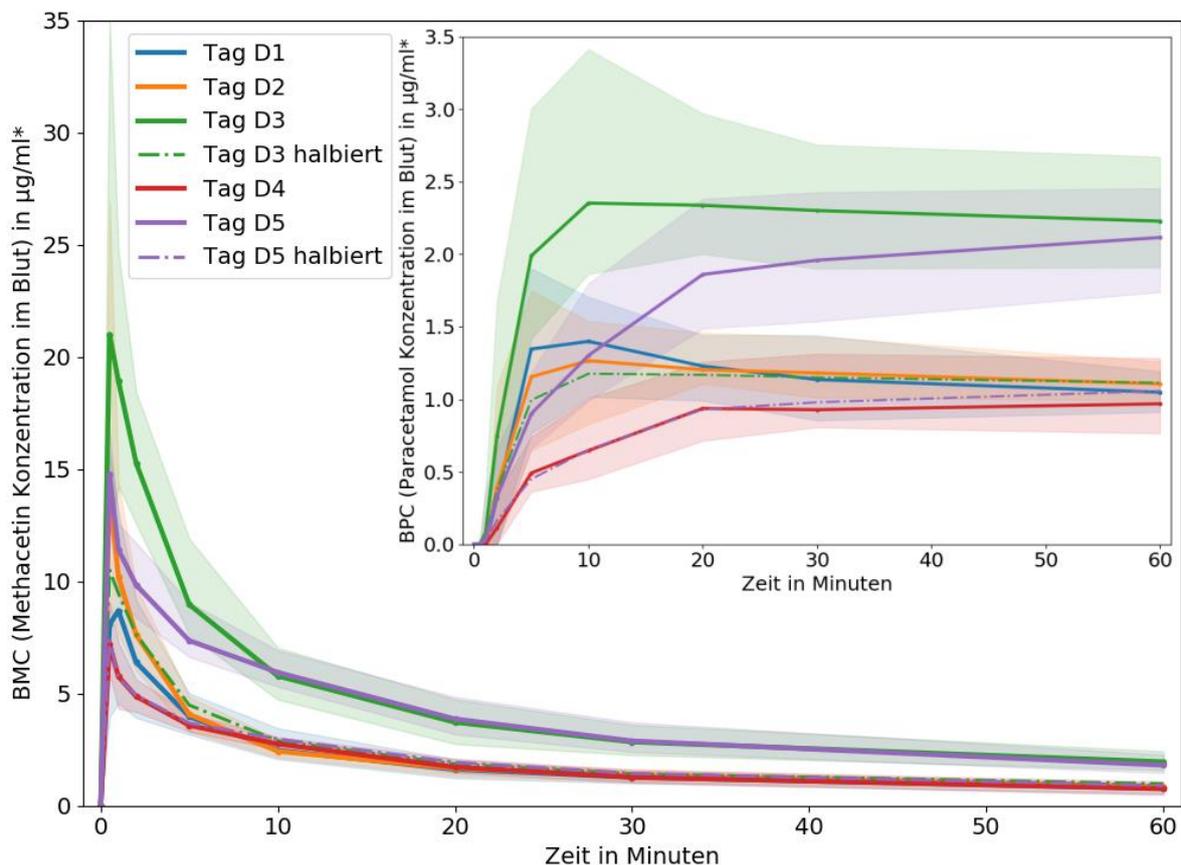


Abbildung 34: Serumspiegel der zeitabhängigen Methacetinkonzentration (BMC) und Paracetamolkonzentration (BPC) im Blut für den jeweiligen Messtag der Dosis-Sport-Studie, gemittelt über die Probanden. Wie im Text erläutert sollte eine potenzielle Skalierung der y-Achse in Betracht gezogen werden. Die Zeitkonstanten und Amplitudenverhältnisse beim exponentiellen Fit des Abklingens sind wichtig für die später eingeführte Entfaltung. Ferner rechtfertigt die sehr gute Übereinstimmung der halbierten Serumspiegel bei doppelter Dosis (gestrichelt grün) mit dem Serumspiegel bei einfacher Dosis (blau und orange) die Annahme und Voraussetzung späterer Schlussfolgerungen, dass der Serumspiegel in guter Näherung proportional zur verabreichten Dosis ist.

8.5 EINFACHER FIT MIT DER SUMME AUS EXPONENTIALFUNKTIONEN

Zur Unterdrückung des Rauschens und mit der Absicht weitere aussagekräftige Parameter aus dem zeitaufgelösten DOB-Verlauf erlangen zu können, wurden die Messergebnisse aus der Dosis-Sport-Studie (für die Tage D1 bis einschließlich Minute 60 und D2 bis einschließlich Minute 50) mit der Summe aus Exponentialfunktionen gefittet. Da nicht mehr ^{13}C -Überschuss abgeatmet werden kann, als ^{13}C verabreicht wurde, wurde hierbei von „Massenerhaltung“ ausgegangen. Für die Modellgleichung hat dies zur Folge, dass die aufsummierten Amplituden der steigenden Funktionen gleich der aufsummierten Amplituden der fallenden Funktionen sind. Für unser Probandenkollektiv mit durchweg guter Leberfunktion genügte ein Ansatz mit einer steigenden und zwei fallenden Exponentialfunktionen:

$$DOB(t) = A1 * \exp(t/\tau1) - A2 * \exp(t/\tau2) - A3 * \exp(t/\tau3) \quad (6)$$

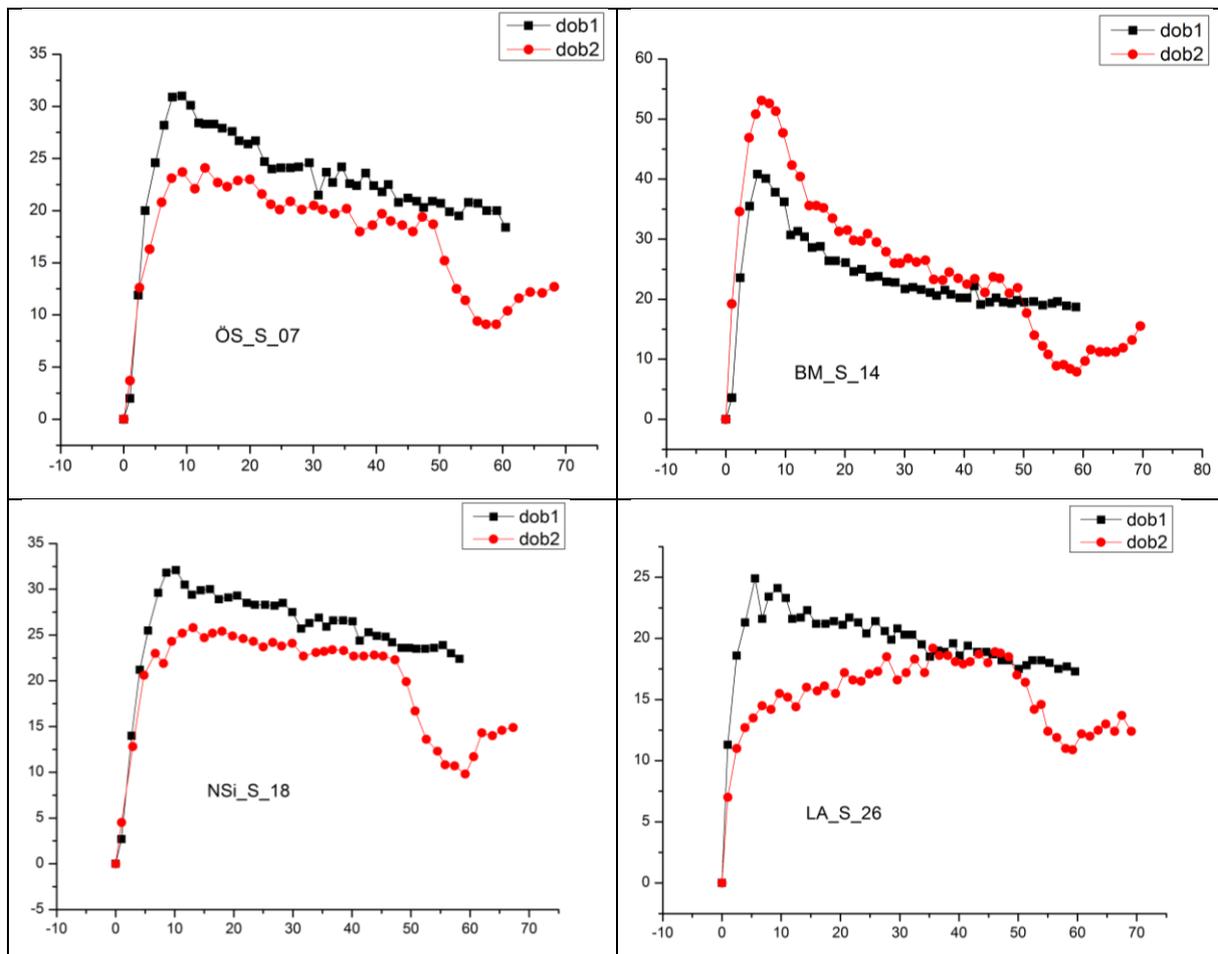
Hierbei ergaben sich folgende Werte: **A1 = 39(14) ‰** als die Amplitude der schnell wachsenden E-Fkt. **$\tau1 = 2,9(1,6)$ Minuten**. Sie repräsentiert das Anfluten der Hepatozyten mit Methacetin sowie die rasche Verstoffwechslung. **A2 = 25(6) ‰** ist die Amplitude der mittelmäßig schnell abklingenden Funktion mit der Abklingzeit **$\tau2 = 24(14)$ Minuten** und repräsentiert entsprechend der Ergebnisse dieser Arbeit die Umverteilung des Stoffwechselproduktes ^{13}C -Bikarbonat im Blutkreislauf. **A3 = 14(14) ‰** entspricht hier vorrangig der Abatmung des Bikarbonatüberschusses. Ein Fit der Zeitkonstante **$\tau3 = 180$ Minuten** erschien hier wenig sinnvoll, da die Messdauer hierfür zu kurz war und der Wert der langsamen Zeitkonstante somit mit einer viel zu großen Unsicherheit behaftet wäre. Stattdessen wurde der Wert für alle Fits vorgegeben und entspricht dem Ergebnis von acht mehrstündigen Voruntersuchungen an drei unterschiedlichen Probanden. Erwähnenswert ist noch, dass bei 20% der Fits $A2 = 0$ das beste Ergebnis lieferte und somit nur zwei Exponentialfunktionen (schnelles Anwachsen und langsames Abklingen) benötigt wurden.

Bei dem Ansatz, die typischen 7 Kinetiken entsprechend den repräsentativen Gruppen unterschiedlicher Leberzustände aus Abbildung 23 mit einer wachsenden und zwei abklingenden Exponentialfunktionen gemäß Formel (6) zu fitten, stellte sich heraus, dass dies nicht möglich ist. Vielmehr benötigen die Gruppen 4-7 mit schlechter Leberfunktion zwei unterschiedlich schnell wachsende Exponentialfunktionen und bei der angegebenen Messdauer von 60 Minuten prinzipiell keine abklingende Funktion.

8.6 INTERINDIVIDUELLE REPRODUZIERBARKEIT DES MBTS

Tabelle 6 zeigt vier Beispiele aus der Dosis-Sport-Studie für möglichst stark abweichende DOB-Kinetiken bei jeweils denselben Testpersonen. Es ist naheliegend, dass diese Abweichung der Kinetik am zweiten Tag daher rührt, dass die Probanden ab Minute 50 auf einem Ergometer Sport trieben. Dies entspricht nicht dem typischen Testprotokoll, bei dem die Probanden angehalten sind, möglichst still (bewegungsarm) zu liegen. Entsprechend weicht z.B. die Kurvenformen von LA_S_26 am zweiten Tag D2 (hier ausnahmsweise dob2 genannt) derart stark vom typischen DOB-Kurvenverlauf ab (siehe Abbildung 23), dass die Validität des Testergebnisses von D2 hier in Frage gestellt werden sollte. Im klinischen Alltag würde es sich hier empfehlen, den Test gegebenenfalls zu wiederholen.

Tabelle 6: Besonders stark voneinander abweichende DOB-Kinetiken der jeweils gleichen Probanden. Dargestellt sind die DOB-Werte über die Minuten, exemplarisch für vier Probanden aus der „Dosis-Sport-Studie“ für die Tage D1 und D2 (hier dob1 und dob2 genannt). Der Einbruch der DOB-Werte bei D2 ab Minute 50 liegt an dem Sport.



8.7 BETRACHTUNG VON SÄTTIGUNGSEFFEKTEN BEI WIEDERHOLTER

EINFACHER DOSISGABE

Zur Untersuchung möglicher Sättigungseffekte wurde dem Probanden mehrmalig die übliche ^{13}C -Methacetindosis von 2 mg Methacetin pro kg Körpergewicht IV im Bolus verabreicht. Zunächst alle 30 Minuten, dann an einem anderen Versuchstag alle 20 Minuten und final alle 10 Minuten. Wie in Abbildung 35 dargestellt ist, ist auch bei fünfmaliger Verabreichung alle 10 Minuten kein merklicher Sättigungseffekt zu erkennen.

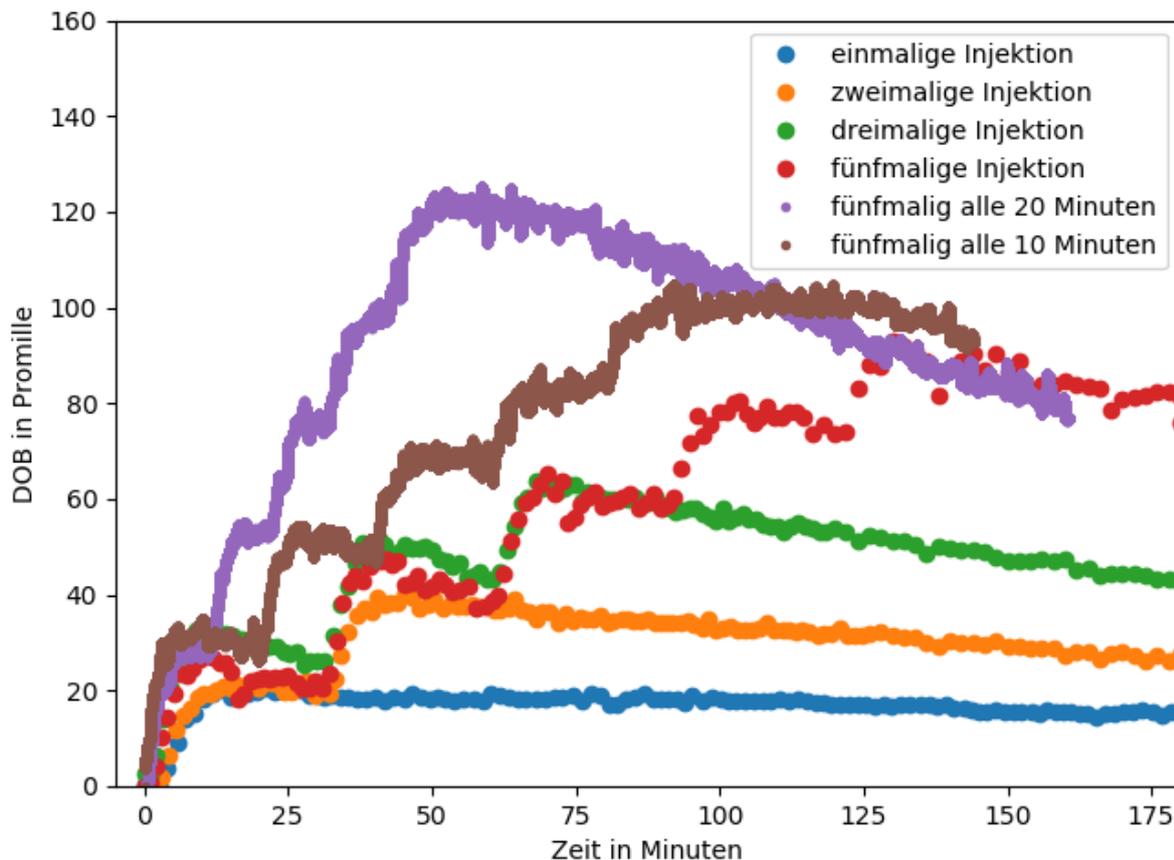


Abbildung 35: DOB-Kinetik bei mehrmaliger Injektion von 2 mg ^{13}C -Methacetin pro kg Körpergewicht. Die Injektion erfolgte nach LiMAX-Protokoll im Bolus in eine der Armvenen. Falls nicht anders erwähnt, erfolgte die Injektion alle 30 Minuten. Es ist kein merklicher Sättigungseffekt erkennbar. Je eine Farbe entspricht einem Versuchstag.

Dieses Ergebnis führte leider teilweise zu folgender **Fehlinterpretation**: „Bei einem Probanden mit normaler bzw. gesunder Leberfunktion tritt kein (merklicher) Sättigungseffekt auf - auch nicht bei fünffacher Dosis (10 mg/kg BW)“. Stattdessen zeigt sich in Abschnitt 8.8 bezüglich Entfaltung, dass die Methacetin-Konzentration im Blut (BMC) bei diesem Probanden bereits nach etwa 10 Minuten schon wieder so niedrig ist, dass kein merklicher Sättigungseffekt auftritt. Wurde diesem Probanden hingegen die vierfache Dosis mit einem Mal injiziert, so trat ein deutlicher Sättigungseffekt auf. Siehe hierzu Abbildung 40.

8.8 NEUER ANSATZ: ENTFALTUNG MIT DER UMVERTEILUNGSDYNAMIK

Beim Vergleich des zeitlichen Verlaufs der in der Dosis-Sport-Studie gemessenen Methacetinkonzentration im Blut und der von Irving et al. publizierten Bikarbonat-Dynamik (zusammengefasst in Abbildung 5) wird deutlich, dass beide Abklingverhalten von der Umverteilung innerhalb der Blutkompartimente dominiert werden. Beide sind in Abbildung 36 zum Vergleich dargestellt.

8.8.1 Umverteilung in der Blutkompartimenten als dominierender Effekt

Abbildung 36 zeigt die entsprechenden multiexponentiellen Abklingverhalten mit normal dargestellter y-Achse und als Bild im Bild mit logarithmischer y-Achse für Bikarbonat und Methacetin.

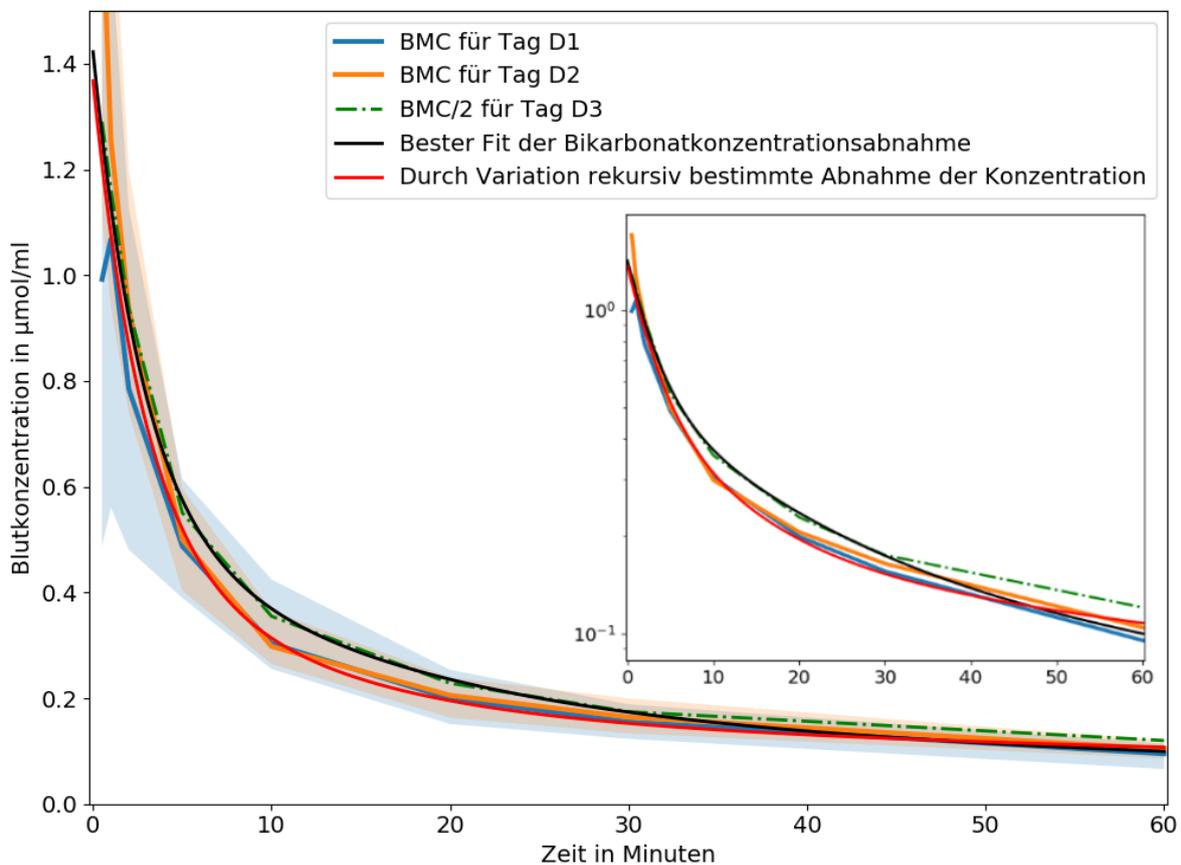


Abbildung 36: „Bikarbonatkinetik“: Multiexponentielles Abklingen der Literaturwerte der Bikarbonatkonzentration (schwarz) und der im Rahmen der Dosis-Sport-Studie gemessenen Methacetinkonzentration BMC (blau, orange, grün) sowie der durch Variation der Fitparameter gefundenen theoretischen BMC (siehe Abbildung 43) im Blut skaliert entsprechend einer Bolusinjektion von 12 µmol/kg BW bzw. 2 mg ¹³C-Methacetin pro kg BW bei einem theoretischen Blutvolumen von 71 ml/kg BW.

Die y-Werte von Abbildung 36 wurden entsprechend einem Blutvolumen von 71 ml/kg BW skaliert. Durchschnittswerte liegen für Frauen bei 65(10) ml/kg BW und für Männer bei

77(10) ml/kg BW. Beim Fit der in Abbildung 5 dargestellten DOB-Verläufe der Bikarbonat-Dynamik mit $f(t)$ als der Summe aus drei fallenden Exponentialfunktionen, in Analogie zum Ansatz von Irving et al., wurden die Werte bestimmt, welche in Tabelle 7 wiedergegeben sind.

$$f(t) = A1 * \exp\left(-\frac{t}{\tau1}\right) + A2 * \exp\left(-\frac{t}{\tau2}\right) + A3 * \exp\left(-\frac{t}{\tau3}\right) \quad (7)$$

Tabelle 7: Fitparameter des Abklingverhaltens der Bikarbonat-Dynamik

Name des Parameters	Mittelwert (ohne Quartile)	Wert (Quartil 1)	Wert (Quartil 4)
A1 in DOB	140,5(6,8)	155	133
τ1 in Minuten	2,74(19)	2,1	3,4
A2 in a.u.	63,4(6,2)	84	47
τ2 in Minuten	14,3(2,4)	11,2	20,4
A3 in a.u.	27,5(3,7)	32	22
τ3 in Minuten	102(13)	98	104

8.8.2 Ergebnisse der Entfaltung der typischen Kinetikverläufe für die sieben Gruppen unterschiedlicher Leberleistung

Die typischen Kinetikverläufe, ermittelt aus den 10100 Messungen, wurden mit der Bikarbonatkinetik entfaltet, um die anteilige Methacetin-Metabolisierungsrate zu erhalten. In Abbildung 37 ist vor allem bei Gruppe 1 (blau) ein sehr deutlicher Peak nach der Entfaltung in der anteiligen Methacetin-Metabolisierungsrate erkennbar.

Bei Gruppe zwei ist dieser Peak deutlich geringer ausgebildet. Bei allen anderen Gruppen tritt dieser Peak so nicht auf. Bei Gruppe 1 entspricht der Verlauf in sehr guter Näherung dem Verlauf der Methacetinkonzentration im Blut (BMC) und somit auch in sehr guter Näherung dem Verlauf der Bikarbonatdynamik.

Bei den anderen Gruppen hingegen skaliert die Metabolisierungsrate nicht linear. Der Peak ist im Vergleich viel schwächer ausgeprägt oder überhaupt gar nicht erkennbar, obwohl die Dauer bis zum Erreichen des Maximums beispielsweise bei den Gruppen 2 (orange) und 3 (grün) ebenfalls bei 3-4 Minuten liegt.

Dass die Metabolisierungsrate jedoch nicht linear der Methacetinkonzentration folgt, sondern für höhere Konzentrationen nur leicht anwächst, entspricht aber genau der Definition eines Sättigungseffektes.

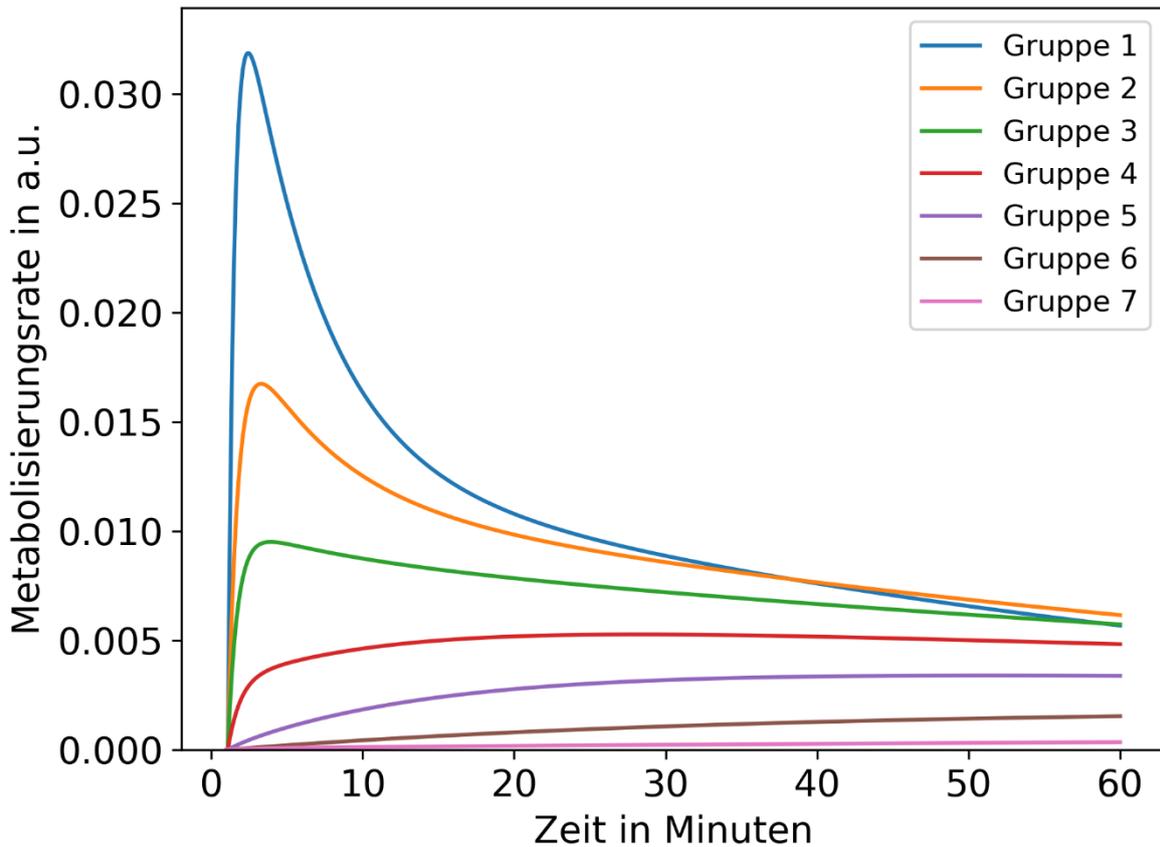


Abbildung 37 zeigt die Metabolisierungsraten entsprechend der 7 Gruppen aus Tabelle 1 im Vergleich. Sie entstehen, wenn die DOB-Kinetiken mit der Umverteilungsfunktion (abklingenden Funktion der Bikarbonatkinetik) entfaltet werden.

8.9 BETRACHTUNG VON SÄTTIGUNGSEFFEKTEN BEI EINMALIGER X-FACHER DOSISGABE

Im Rahmen der Dosis-Sport-Studie wurde den Probanden an zwei Tagen D1 und D2 jeweils die einfache Dosis in Höhe von 2 mg ¹³C-Methacetin pro kg Körpergewicht (BW) injiziert. An Tag D3 wurde die doppelte Dosis in Höhe von 4 mg/kg BW verwendet. Abbildung 38 zeigt die entsprechenden gemittelten DOB-Kinetiken aller Probanden. Abbildung 39 zeigt die mit der Bikarbonat-Dynamik entsprechend des Fits aus Abbildung 36 entfalteteten DOB-Werte aus Abbildung 38, was der anteiligen Metabolisierung des gesamten verabreichten Methacetins zur jeweiligen Zeit entspricht. Es ist klar erkennbar, dass die grün dargestellte Metabolisierung bei doppelter Dosis (4mg/kg BW) nicht zu jedem Zeitpunkt dem Doppelten der Metabolisierung der einfachen Dosis entspricht. Da die Methacetinkonzentration im Blut (BMC) jedoch in sehr guter Näherung zu jedem Zeitpunkt doppelt so hoch war (siehe zum Vergleich Abbildung 34), zeigt dies eindeutig, dass es einen starken Sättigungseffekt gibt.

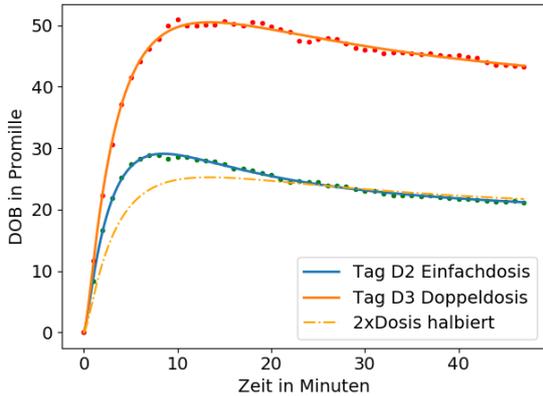


Abbildung 38: DOB-Verlauf gemittelt für die Probanden bei der Dosis-Sport-Studie für die einfache und doppelte Dosis, je 2 mg/kg BW und 4 mg/kg BW. Bemerkenswert ist die Abweichung der halbierten Messwerte bei doppelter Dosis von den Messwerten der Einfachdosis innerhalb der ersten Viertelstunde.

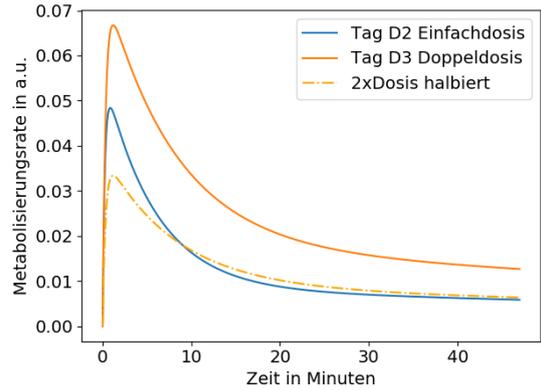


Abbildung 39: Zeitabhängige Metabolisierungsraten für „Einfach“ und „Doppelt“, bestimmt durch Entfaltung mit der typischen Bikarbonat-Dynamik. Hier wird der besagte Unterschied des Verlaufs zwischen den beiden skalierten Kurven noch deutlicher als bei den DOB-Werten. Da die zeitliche „Verschmierung“ durch die Bikarbonat-Dynamik ausbleibt, wird der Unterschied allerdings in den ersten 7 Minuten deutlich, anstatt innerhalb der ersten Viertelstunde.

Während der Voruntersuchungen zur „Dosis-Sport-Studie“ wurde dem Probanden, dessen DOB-Kinetiken bei mehrmaliger Injektion der einfachen Dosis in Abbildung 35 dargestellt wurden, auch einmalig die vierfache Dosis ^{13}C -Methacetin in Höhe von 8 mg/kg BW im Bolus injiziert.

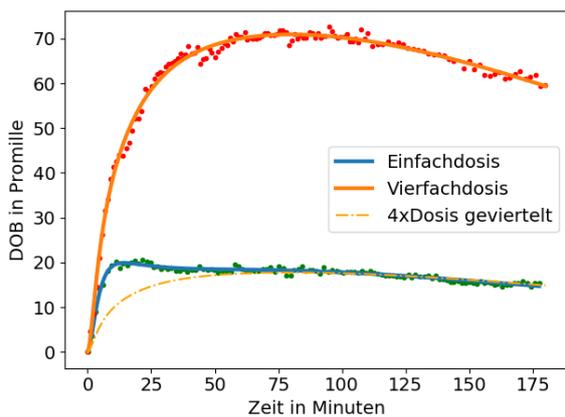


Abbildung 40: DOB-Werte für einfache und vierfache Dosis in Analogie zu Abbildung 38, allerdings über drei Stunden. Die Sättigungseffekte sind noch prägnanter.

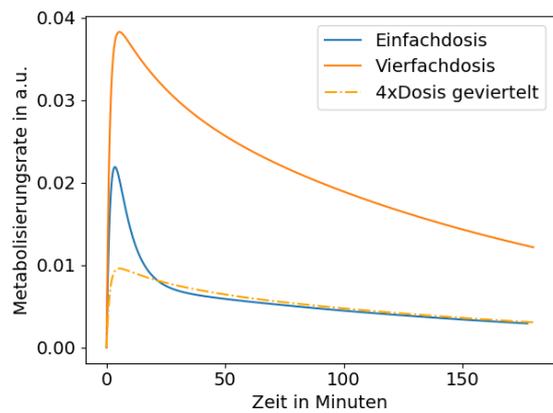


Abbildung 41: Metabolisierungsraten für „Einfach“ und „Vierfach“ entfaltet in Analogie zu Abbildung 39. Auch hier sind die Sättigungseffekte viel prägnanter.

Während bei fünfmaliger Injektion der Einzeldosis im Abstand von jeweils 10 Minuten kein Sättigungseffekt erkennbar wurde, zeigen die DOB-Kinetiken von einfacher und vierfacher Dosis in Abbildung 40 bereits ein deutlich erkennbares Sättigungsverhalten, was sich noch deutlicher durch das Ausbleiben eines zur Einfachdosis analogen Peaks in den ersten 20 Minuten für die vierfache Dosis in der durch Entfaltung erhaltenen Metabolisierungsrate widerspiegelt.

Zu beachten ist, dass hier die Messdauer bei drei Stunden liegt anstatt bei einer Stunde wie in Abbildung 38 und Abbildung 39 und dass es sich hierbei um nur eine Kinetik eines Probanden handelt und nicht um die Mittelung über die Kinetiken sämtlicher Teilnehmer der Dosis-Sport-Studie.

8.9.1 Berechnung des prozentual metabolisierten Anteils der Gesamtdosis

Der zeitliche Verlauf der bestimmten Methacetin-Metabolisierungsrate lässt sich anhand der erhaltenen Fitparameter extrapolieren. Abbildung 42 zeigt dies am Beispiel des Vergleichs von „Einfachdosis“ und „Vierfachdosis“. Die Fläche unter der Metabolisierungsrate, integriert bis t gegen unendlich, gibt die verabreichte Gesamtdosis wieder. Das Verhältnis der beiden Flächen unter den Metabolisierungsraten (extrapoliert bis $t = 100$ Stunden) beträgt 3,95 im Vergleich zu „4“ entsprechend den verabreichten Dosen und belegt damit die Qualität der Ergebnisse des Fits und des Ansatzes der Bestimmung der Metabolisierungsrate mittels Entfaltung der DOB-Kinetik mit der Umverteilung im Blut (bekannt aus der Bikarbonatkinetik).

Wird die aufsummierte Fläche unter der Metabolisierungsrate bis zum Zeitpunkt t durch die Fläche für t gegen unendlich (entsprechend der Gesamtdosis) geteilt, so ergibt sich der Anteil, der bereits metabolisiert wurde, ebenfalls dargestellt in Abbildung 42 im Bild im Bild.

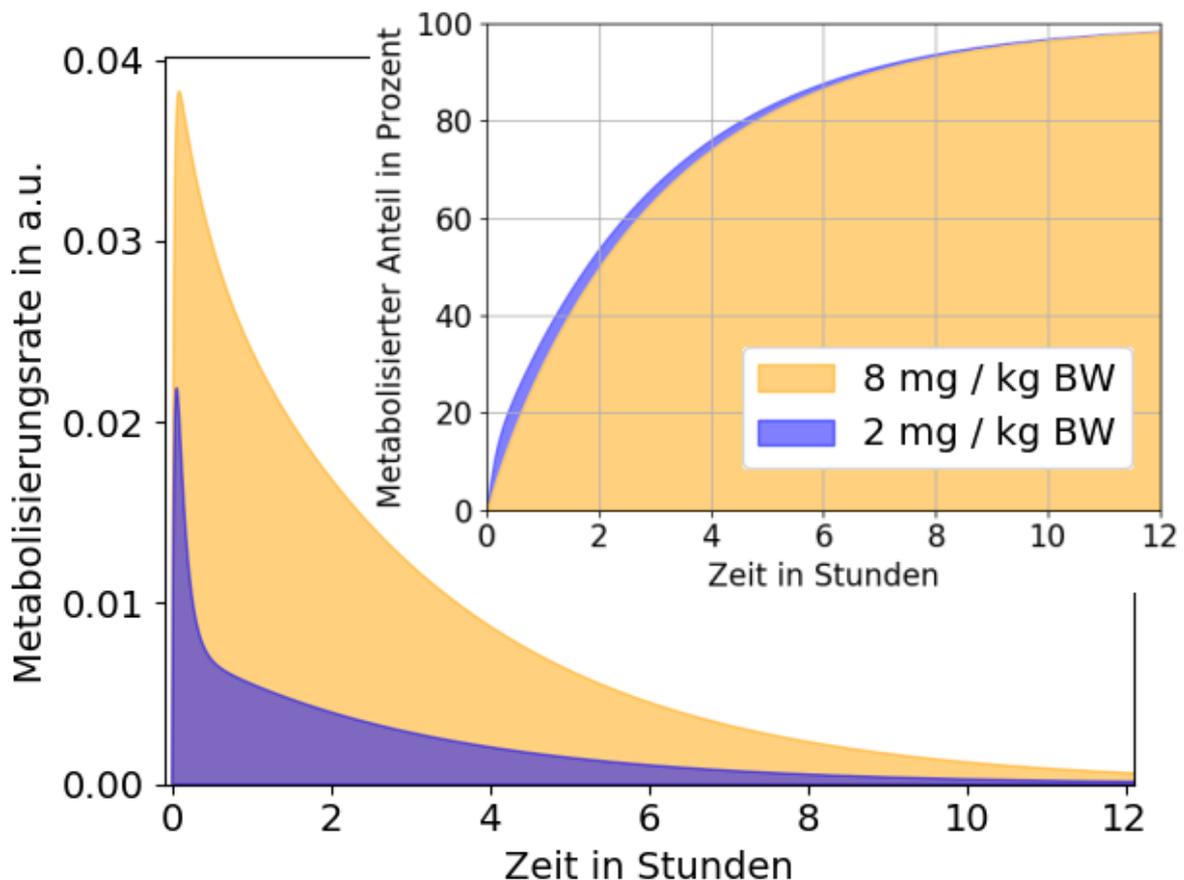


Abbildung 42: Metabolisierungsrate (bestimmt durch Entfaltung) und prozentualer Anteil des bereits Metabolisierten Methacetins für die „einfache“ Dosis (2 mg/kg BW) und die „vierfache“ Dosis (8 mg/kg BW) nach IV Bolusinjektion. Das Verhältnis der beiden Flächen unter der Metabolisierungsrate (extrapoliert bis $t = 100$ Stunden) beträgt 3,95 und gibt das Verhältnis der verabreichten Dosen exzellent wieder, was die Validität des Ergebnisses und die Güte der Fits aufzeigt.

8.10 REKURSIVE BESTIMMUNG DES SÄTTIGUNGSPARAMETER BEI VERWENDUNG VERSCHIEDENER DOSEN

Setzt man voraus, dass die Methacetinkonzentration im Blut (BMC) unter Vernachlässigung der Sättigungseffekte bei der Metabolisierung linear mit der verabreichten Dosis skaliert, so lässt sich rekursiv die Abklingdynamik durch Variation der Parameter bestimmen, indem die Metabolisierungsrate über die BMC aufgetragen wird und die Parameter derart optimiert werden, dass beide Kurvenverläufe möglichst genau übereinstimmen. Das bedeutet nämlich gerade, dass sich bei einer gegebenen Methacetinkonzentration im Blut genau eine entsprechende Metabolisierungsrate einstellt.

8.10.1 Variationen zur Bestimmung der Parameter des Abklingverhaltens der Methacetinkonzentration im Blut (BMC)

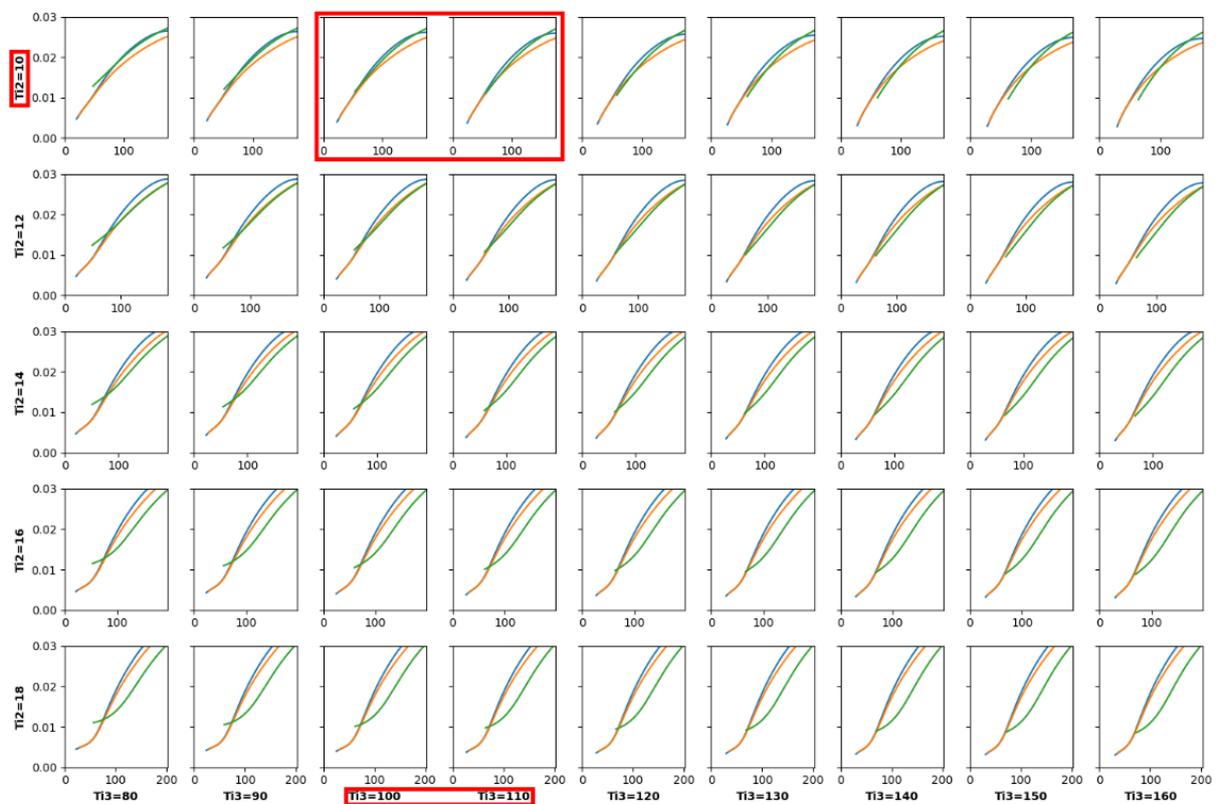


Abbildung 43: Exemplarische Variation der Parameter (Amplitudenverhältnisse und Zeitkonstanten) der Abklingfunktion der ^{13}C -Methacetinkonzentration im Blut, bestehend aus der Summe dreier fallender Exponentialfunktionen. Jeder Graph zeigt die entfaltete Metabolisierungsrate an den drei Tagen D1-D3 der Dosis-Sport-Studie, wobei hier die Parameter der Funktion zur Entfaltung variiert wurden. Das beste Resultat liegt dann vor, wenn die drei dargestellten Kurven für kleine Werte linear gegen den Koordinatenursprung streben und wenn sie möglichst genau übereinander liegen, da dann die Metabolisierungsraten (unabhängig von der verabreichten Dosis) nur von der Methacetinkonzentration im Blut abhängen.

Das beste Resultat für die Variation der Parameter (in Analogie zu Abbildung 43) wurde sowohl für den Vergleich der einfachen und doppelten Dosis als auch für den Vergleich der einfachen und der vierfachen Dosis für folgende Parameter erhalten:

($a_{i1} = 135$; $a_{i2} = 60$; $a_{i3} = 27,5$; $T_{i1} = 2,740853$ Minuten; $T_{i2} = 10$ Minuten; $T_{i3} = 130$ Minuten).

Diese durch Variation optimierten Abklingparameter der BMC sind vergleichbar mit den Werten aus Tabelle 7 und sind entsprechend in Abbildung 36 durch den roten Kurvenverlauf dargestellt. Wie hier erkennbar ist, sind die relativen Konzentrationsabnahmen im Rahmen des Ein-Sigma-Intervalls identisch, egal ob es sich hierbei um die gemessenen Methacetinkonzentrationen, die durch Variation bestimmten Methacetinkonzentrationen oder die Literaturwerte der gemessenen Bikarbonatkonzentration handelt.

Mit anderen Worten: Die hier betrachteten Serumkonzentrationen klingen nach der Injektion in gleicher Weise ab. Und dieses Abklingverhalten konnte auch durch die Variation der Parameter auf Basis der DOB-Messreihen der Dosis-Sport-Studie reproduziert werden, was die Korrektheit der Ergebnisse der aus der Entfaltung bestimmten Metabolisierungsraten belegt.

8.10.2 Gruppenabhängige Methacetin-Extraktionsrate in Abhängigkeit vom BMC

Mit dem nun bekannten zeitlichen Verlauf der Blutmetacetinkonzentration nach Injektion und der ebenfalls nun bekannten Umverteilungsfunktion entsprechend der Bikarbonatkinetik (angewendet für all jenes ^{13}C , welches bei der Verstoffwechslung des Methacetins in der Leber entsteht) können aus den sieben typischen DOB-Kinetiken die entsprechenden typischen Metabolisierungsraten in Abhängigkeit der Blutmetacetinkonzentration bestimmt werden.

Sie sind in Abbildung 44 dargestellt. Es muss natürlich berücksichtigt werden, dass es sich hierbei um simulierte Werte handelt, wobei die verwendeten Eingangsgrößen aus verschiedenen retrospektiven Studien hergeleitet wurden, deren Zwecke völlig andere waren. Eine plausible Abschätzung der Unsicherheiten zu den hier präsentierten Metabolisierungsraten kann daher nicht angegeben werden. Auch die Werte sind in a.u. angegeben, um hier keine Genauigkeit vorzutäuschen, die an dieser Stelle nicht existiert. Der Erkenntnisgewinn ist hier ein qualitativer. Was nämlich deutlich wird ist, dass die Kurvenverläufe eindeutig abflachen, was wiederum das untersuchte Sättigungsverhalten belegt.

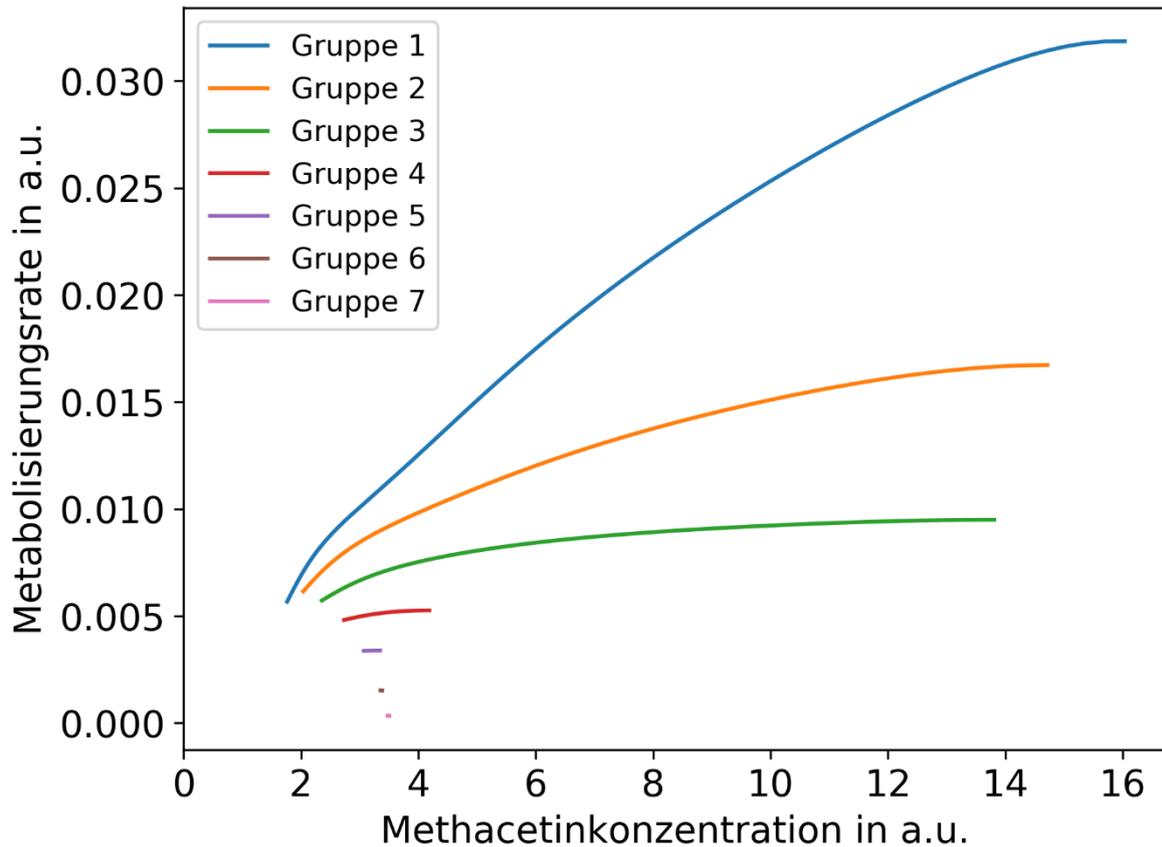


Abbildung 44 zeigt den Vergleich der konzentrationsabhängigen Metabolisierungsraten für die sieben die Leberfunktion repräsentierenden Gruppen aus Tabelle 1. Die Werte stehen im Bezug zur zeitlichen Metabolisierungsrate entsprechend Abbildung 37. Weitere Details befinden sich im Text.

Der Prozess der hier gezeigten Entfaltung ist umgekehrt auch möglich. So lassen sich die DOB-Kinetiken simulieren mittels der Faltung der über die Bikarbonatkinetik abgeschätzten Blutmethacetinkonzentration (BMC) mit den hier gezeigten Metabolisierungsraten.

Vereinfacht gesagt, lässt sich aus der in dieser Arbeit bestimmten Umverteilungsfunktion für Substanzen in den Blutkompartimenten zu jeder Sekunde nach der Methacetininjektion simulieren, wie hoch die für die Leber relevante Blutmethacetinkonzentration gerade ist. (Zeitschritte von einer Sekunde wurden hier gewählt, da das den Abstand zwischen zwei Herzschlägen in Ruhe ausreichend gut repräsentiert. Deutlich kürzere Zeitintervalle für Simulationen auf der Basis von Blutumverteilungen sind daher nicht sinnvoll.)

Bei der zeitaufgelösten Blutmethacetinkonzentration muss zusätzlich entsprechend dem Leberzustand die zu jeder Sekunde aktuelle Metabolisierungsrate entsprechend der Blutmethacetinkonzentration berücksichtigt werden, da sie beschreibt, wieviel Methacetin dabei durch die Leber verstoffwechselt und somit aus dem Blut extrahiert wird.

Das hierbei freigesetzte ^{13}C folgt erneut der Umverteilungsfunktion und wird dem ^{13}C -Überschuss bis zur Abatmung hinzugefügt. Der hierbei simulierte abgeatmete ^{13}C -Überschuss liefert dabei die Basis der simulierten DOB-Werte. Sie sind im nächsten Abschnitt in Abbildung 45 wiedergegeben.

8.11 SIMULATION DER DOB-KINETIKEN MITTELS FALTUNG DER METABOLISIERUNGSRATEN UND DER UMVERTEILUNGSDYNAMIK FÜR BLUTKOMPARTIMENTE

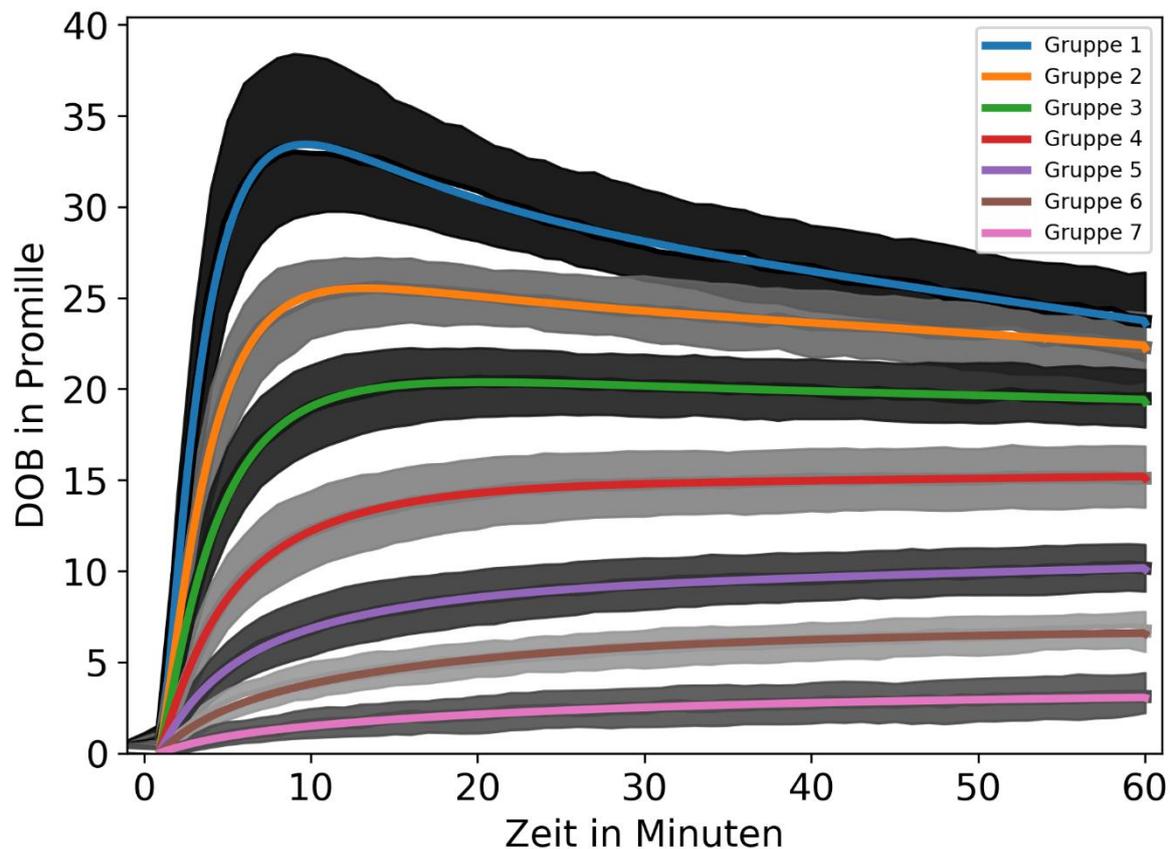


Abbildung 45 zeigt die Simulation von DOB-Verläufen als Faltung der berechneten Metabolisierungsraten (dargestellt in Abbildung 37) mit der Bikarbonatkinetik (dargestellt in Abbildung 36) im Vergleich zu den statistisch aus 10100 Kinetiken ermittelten DOB-Verläufen entsprechend Abbildung 23.

Die typischen DOB-Kurvenverläufe der sieben Gruppen, repräsentativ für unterschiedliche Leberzustände und die simulierten DOB-Kinetiken stimmen exzellent überein, wie in Abbildung 45 dargestellt. Da diese simulierten DOB-Kinetiken auf der Faltung der Bikarbonatdynamik mit den zeitabhängigen Metabolisierungsraten unter Berücksichtigung der Sättigungseffekte basieren, belegt dieses Ergebnis zugleich die Qualität der bestimmten Metabolisierungsraten (dargestellt in Abbildung 37).

9 INTERPRETATION UND EINORDNUNG DER ERGEBNISSE

Die valide Bestimmung der Leberfunktion gilt als eine überaus wichtige Herausforderung im klinischen Alltag. Sie dient der Planung von Leberteilresektionen, der Abschätzung der Notwendigkeit einer Lebertransplantation und der Überwachung des Heilungsprozesses der Leber. Auch bei Anwendungen, bei denen die Leber in sekundärer Weise betroffen ist, beispielsweise bei der Überwachung des Patientenzustandes während einer Chemotherapie oder der Planung von Herzoperationen ist sie von hoher Relevanz. Eine Vielzahl an Methoden wurde für die Bestimmung des Leberzustandes entwickelt und getestet. Der ^{13}C -MBT und insbesondere der LiMAX-Test haben sich hierbei im klinischen Alltag in zahlreichen Studien aufgrund des sofortigen Ergebnisses mit hoher Sensitivität und Spezifität als zuverlässige Diagnose-Methode bewährt und eine signifikante Reduktion der Mortalität erzielt, beispielsweise von 9,4% auf 3,4% ($P = 0,019$) bei einer Studie mit 329 Patienten mit Lebertumoren zur partiellen Hepatektomie.

Wie einleitend beschrieben, befasst sich diese Arbeit damit, inwieweit physiologische Faktoren das Testergebnis entscheidend beeinflussen können, wie diese Einflüsse minimiert werden können und welche Optionen es zur Überprüfung der Validität der Testergebnisse im konkreten Einzelfall gibt. Anhand von aufgestellten Hypothesen, entsprechend geplanten Studien, einer retrospektiven Studie von 10100 MBT-Messreihen, Simulationen und Kausalitätsketten soll diese Arbeit ferner einen wissenschaftlichen Beitrag zum Verständnis der komplexen, physiologischen Zusammenhänge bezüglich des MBTs bzw. LiMAX-Tests leisten. Die gewonnenen Erkenntnisse zeigen die Vorteile der Dosiswahl von 2 mg Methacetin pro kg Körpergewicht in Bezug auf Sensitivität und Spezifität auf und bestätigen die Wichtigkeit der Einhaltung des LiMAX-Testprotokolls. Sie dienen ferner dem Verständnis der mit dem MBT zusammenhängenden, komplexen physiologischen Prozesse und lassen sich potenziell auch auf andere, analoge Testverfahren übertragen, wie z.B. Tests anderer Organfunktionen unter Verwendung anderer Diagnostika. Entsprechende Ergebnisse werden nun im Einzelnen eingehend diskutiert, interpretiert und im wissenschaftlichen Kontext eingeordnet.

9.1 ANFORDERUNGEN AN DOB- UND ZEITAUFÖSUNG DES MESSGERÄTES

Im Abschnitt „Messgenauigkeit des FLIP-Geräts“ wurden die Spezifikationen des eigens entwickelten FLIP-Gerätes beschrieben. Die Zeitaufösung der Messung beträgt knapp 30 Sekunden und die reproduzierbare DOB-Aufösung beträgt 1 Promille. Mit einem derart leistungsfähigen Messgerät lassen sich DOB-Kintiken so hochaufgelöst aufnehmen, dass sowohl das DOB-Maximum als auch die Form der DOB-Kinetik hinreichend genau gemessen

werden können, was die Berechnung des LiMAx-Wertes und den Vergleich mit den typischen DOB-Kurvenformen ermöglicht (siehe hierzu Abbildung 23). Dies ist für den klinischen Einsatz relevant, da eine starke Abweichung von der in dieser Arbeit präsentierten typischen Form der DOB-Kinetiken darauf hinweist, dass das Testergebnis nicht valide ist und der Test im Zweifelsfall wiederholt werden sollte.

Für die Erforschung und das bessere Verständnis der komplexen Vorgänge beim MBT ermöglicht die hohe DOB- und Zeitauflösung, die in dieser Arbeit vorgestellte Entfaltung und somit die ebenfalls vorgestellte Bestimmung der zeitabhängigen Metabolisierungsrate (siehe hierzu Abbildung 37). Ein weiterer Vorteil bei dem Messverfahren des FLIP-Gerätes ist, dass es kontinuierlich den absoluten $^{13}\text{CO}_2$ - und $^{12}\text{CO}_2$ -Gehalt der gesamten Ausatemluft der Testperson bestimmt und zeitgleich zusätzlich ihren Volumenstrom mit einer relativen Unsicherheit ($k=1$) von einem Prozent messen kann. Entsprechend braucht hierbei die abgeatmete, absolute CO_2 -Menge nicht mehr, wie üblich, über eine theoretische Formel abgeschätzt zu werden, von der die tatsächliche Menge dank ihrer starken Variation häufig über 100% abweicht, sondern kann sehr genau gemessen werden. Für künftige Studien im Zusammenhang mit der Erholungsrate oder der CO_2 -Dynamik (Produktion, Verteilung und Abatmung) empfiehlt es sich, diesen Vorteil zu nutzen. Für den klinischen Einsatz ist hierbei allerdings zu beachten, dass zur Bestimmung der absoluten Menge des abgeatmeten $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses auch kontinuierlich sämtliche abgeatmete Luft aufgefangen werden müsste. Das scheint unpraktikabel, da selbst ein kurzzeitiges Abnehmen der Atemmaske oder ein nicht perfekter Sitz, bei dem oftmals ein gewisser Teil am Rand der Maske entweicht, das Messergebnis bereits merklich absenken würde. Hingegen sind bei der Bestimmung des DOB-Maximums diese Punkte vernachlässigbar, solange ausreichend Atemluft zum Zeitpunkt des DOB-Maximums ins Messgerät gelangt. In welchem Zeitfenster das Maximum erreicht wird, ist wiederum dank der Kenntnis der typischen Kurvenform bekannt. Die im Rahmen dieser Arbeit gefundenen typischen Kurvenformen werden im nächsten Abschnitt genauer diskutiert.

9.2 DIE STANDARDFORMEN DER LIMAX-KINETIK - RETROSPEKTIVE STUDIE AN 10100 DOB-KINETIKEN

In einer retrospektiven Studie wurden 10100 DOB-Kinetiken des klinischen Alltags in sieben Gruppen anhand der LiMAx-Werte eingeteilt. Die Einteilung erfolgte nach Tabelle 1, wobei Gruppe 1 den besten Leberzustand und Gruppe 7 Leberversagen repräsentiert. Für diese Gruppen wurden typische Kurvenverläufe der Kinetik gefunden und in Abbildung 23 mit Medianen und zugehörigen Quartilen dargestellt. Diese können bei der Bestimmung der Leberfunktion mittels des LiMAx-Tests für die Auswertung hinzugezogen werden, um

zusätzliche Sicherheit bezüglich der Testvalidität zu bieten und die bereits hervorragende Spezifität weiter zu verbessern. Die jeweiligen Kurven sind deutlich voneinander getrennt, was auch ohne dass eine zusätzliche Biopsie zu jeder Messung durchgeführt wurde, die gute Qualität und Spezifität des MBTs entsprechend dem LiMAx-Testprotokoll belegt.

Es zeigt sich, dass die Messung der Zeitspanne bis zum Erreichen des halben DOB-Maximums eine gute Ergänzung insbesondere bei schlechten Leberfunktionen bietet. Andere Anteile des Maximums als die Hälfte sind ebenfalls denkbar, jedoch liefern 50% bereits vielversprechende Ergebnisse. Auch bei schlechter Leberfunktion wird das halbe DOB-Maximum bereits nach knapp 11 Minuten erreicht. Beabsichtigt man einen möglichst kurzen Test zu kreieren, so gibt die statistische Analyse der Form der Kinetik den Hinweis darauf, dass prinzipiell unter Verwendung des maximalen Anstiegs bereits eine zehnminütige Messung nach Aufnahme der Baseline genügen sollte, um die Leberfunktion eindeutig einzustufen zu können! Voraussetzung hierfür ist eine genügend schnelle Zeitauflösung kleiner als eine Minute und eine Reproduzierbarkeit zusammen mit einem entsprechend guten Signal-zu-Rausch-Verhältnis mit einer Standardabweichung besser als 1 DOB. Eine Analyse der Kurvenform samt Abklingverhalten, welche im Zweifelsfall die verbesserte Einschätzung der Testvalidität ermöglicht, bliebe dann allerdings zu Gunsten der Zeitersparnis aus.

Gerade für die kritischen Gruppen: 5, 6 und 7, wobei Gruppe 7 den schlechtesten Leberzustand „Leberversagen“ repräsentiert, zeigte sich die Form der DOB-Kinetik robust gegenüber allen anderen Parametern außer dem Zustand der Leber selbst. Aus theoretischer Sicht unter Berücksichtigung physiologischer Aspekte scheint ein Zusammenhang zwischen Kurvenform und Leberfunktion plausibel und wurde durch die statistische Auswertung von 10100 Messungen experimentell bestätigt. Weicht die Kurvenform zu stark von der typischen Form entsprechend dem DOB- bzw. LiMAx-Intervall ab, beispielsweise durch Unstetigkeiten, so ist das ein sehr sicherer Indikator dafür, dass das Messergebnis nicht valide ist.

9.3 DOSIS-SPORT-STUDIE

Die Dosis-Sport-Studie sollte Aufschluss darüber geben, ob die DOB-Werte sich proportional mit der verabreichten Dosis verhalten oder ob ein Sättigungseffekt erkennbar ist. Hierfür wurden den 4 Frauen und den 17 Männern im durchschnittlichen Alter von 28 Jahren (21-47) die „einfache“ ^{13}C -Methacetindosierung von 2 mg/kg Körpergewicht (BW) und die „doppelte“ Dosierung von 4 mg/kg BW entsprechend dem LiMAx-Testprotokoll im Bolus IV verabreicht.

Die erhobenen Daten wurden von Pouria Taheri in der Dissertationsschrift *„Untersuchung von $^{13}\text{CO}_2$ Entstehung, Verteilung und Ausscheidung zur verbesserten Interpretation der*

Ergebnisse beim ¹³C-Methacetin Atemtest zur Messung der enzymatischen Leberfunktion“ (2017) ausgewertet mit der qualitativen Aussage, dass es bei gesunden Probanden nicht „langfristig“ zur Sättigung kommt. Entsprechend Abbildung 38 ist der Sättigungseffekt für die Probanden mit guter Leberfunktion bei doppelter Dosis und der damit einhergehenden Erhöhung des DOB-Maximums um den Faktor 1,8(3) nicht signifikant, auch wenn sich hier bereits ein Trend absehen lässt. So dauert es bis zum Erreichen des Maximums bei doppelter Dosis 13(1) Minuten im Vergleich zu 9(1) Minuten bei einfacher Dosis. Für die vorbereitenden Messungen zur Erstellung des Testprotokolls wurde einem Probanden die vierfache Dosis verabreicht. Abbildung 40 zeigt die entsprechenden Messwerte. Die Sättigung ist klar erkennbar. Der Faktor der DOB-Maxima liegt bei 3,5 anstatt 4 entsprechend der Dosis und das Maximum wird bei vierfacher Dosis erst nach 75(15) Minuten erreicht anstatt nach 10(1) Minuten bei einfacher Dosis. Betrachtet man lediglich die Kurvenform (Hinweis: die Zeitachse ist hier im Vergleich zu den anderen Abbildungen in dieser Arbeit gestaucht, da es sich um eine Drei-Stunden-Messung handelt) im Vergleich zu den „Standardformen“ ähnelt der bis zur Minute 75 anwachsende Verlauf eher dem von Gruppe 6-7, was ebenfalls auf einen massiven Sättigungseffekt hinweist. Detailliert wird auf den Sättigungseffekt nochmals in Abschnitt 9.7 eingegangen.

Der zweite Aspekt der Dosis-Sport-Studie war die Betrachtung des Einflusses von Bewegung der Probanden während der Messung, die laut LiMAX-Testprotokoll möglichst auf ein absolutes Minimum zu reduzieren ist. Zur Quantifizierung des Einflusses sollte eine deutliche Veränderung hervorgerufen werden. Daher wurde ein Ergometer verwendet und so viel sportliche Leistung erbracht, dass die Herzfrequenz möglichst konstant bei dem 1,9-fachen des Ruhepulses lag. Dies wurde in zwei Variationen bewerkstelligt: An den Messtagen D2 und D3 (mit doppelter Dosis) für 10 Minuten, beginnend bei Minute 50 nach Methacetinjektion. In Abbildung 33 ist zu erkennen, dass während dieser 10 Minuten Sport der DOB-Wert exponentiell auf die Hälfte abfällt. Während der 10 Minuten Ruhephase im Anschluss steigt der DOB-Wert wieder auf 2/3 an. Wird hingegen bereits vor, während und nach der Injektion Sport betrieben, dauert es deutlich länger, bis das Maximum der DOB-Kinetik erreicht wird und der DOB-Wert ist auf 1/3 reduziert verglichen mit der Messung in Ruhe. Entsprechend der Ergebnisse und der durch die Simulationen der DOB-Kinetik erlangten Erfahrungen im Rahmen dieser Arbeit lässt sich der durch Sport bedingte Einbruch der DOB-Werte beim MBT durch folgende Hypothese mit drei Aspekten erklären:

1. **„Verdünnung durch Glukose“:** Bei der Energiebereitstellung für die Muskelarbeit durch Glykose wird CO₂ mit dem durchschnittlichen Isotopenverhältnis des Glykogenspeichers entsprechend der Baseline vor der ¹³C-Methacetingabe in die jeweiligen

Bikarbonatkompartimente ausgeschüttet. Dieser Effekt wurde bereits in der Dissertationsschrift von Pouria Taheri beschrieben und entspricht einer Verdünnung des $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses. Ein einfaches Beispiel für den statischen Fall wäre: Steht doppelt so viel „Glykogen- CO_2 “ zur Verfügung, so halbiert sich der DOB-Wert bei gleichem $^{13}\text{CO}_2$ -Überschuss. Nun ist die Methacetin-Anflutung der Leber, Extraktion und Metabolisierung sowie Umverteilung in den Blutkompartimenten und letztliche Abatmung des entstandenen $^{13}\text{CO}_2$ -Überschusses ein sehr dynamischer Prozess, was weitere Schlussfolgerungen zulässt. Wurde während des MBTs im Zeitfenster von Minute 50-60 das Ergometer verwendet, so stieg in der anschließenden Ruhephase der DOB-Wert wieder merklich an. Dies ist damit zu erklären, dass weiterhin Methacetin verstoffwechselt wird. Dies ist in Übereinstimmung mit den in Abbildung 42 dargestellten Ergebnissen für die anteilige Metabolisierung bezüglich verabreichter Gesamtdosis, nach denen nach etwa einer Stunde noch knapp 70% des Methacetins im Blutkreislauf zirkulieren.

2. **Geringere Anflutung:** Während sportlicher Betätigung bleibt, wie aus Tabelle 2 ersichtlich, der direkte Blutstrom zur Leber mit 0,3 Liter/Minute konstant. Der Blutstrom über den Magen-Darm-Trakt (MDT) verringert sich hingegen von 1,05 l/Min zu 0,3 l/Min. Entsprechend halbiert sich der Gesamtblutstrom zur Leber in guter Näherung.
3. **Schnellere Umverteilung:** Die Umverteilung innerhalb der Blutkompartimente ist während des Sports deutlich schneller. So fällt beispielsweise die gemessene Methacetin-Konzentration wie in Abbildung 34 dargestellt bei IV Bolusinjektion der Einfachdosis nach einer Minute in Ruhe auf 10 $\mu\text{g/ml}$ und im Vergleich nach einer Minute während des Sports auf 6 $\mu\text{g/ml}$. Die gleiche schnellere Umverteilung ist für das bei der Verstoffwechslung entstehende ^{13}C -Bikarbonat anzunehmen.

Dies verdeutlicht, wie wichtig es ist, Unruhe und den Einfluss von körperlicher Bewegung beim MBT auf den DOB-Wert zu vermeiden, um nicht die Validität des Tests zu gefährden.

Messbegleitend wurden die Blutkonzentrationen des injizierten Methacetins und dessen Stoffwechselprodukt (Paracetamol) gemessen. Der Vergleich der rasch multi-exponentiell abklingenden Methacetinkonzentration im Blut (BMC) mit dem in der Literatur zu findenden multi-exponentiellen Abklingverhalten von im Bolus injiziertem Bikarbonat zeigt im Rahmen der Standardabweichung die gleichen Amplitudenverhältnisse und Zeitkonstanten auf: $a_{i1}=140(7)$ mit $T_{i1}=2,74(19)$ Minuten, $a_{i2}=63(6)$ mit $T_{i2}=14,2(2,3)$ Minuten und $a_{i3}=27,5(3,7)$ mit $T_{i3}=102(13)$ Minuten. Entsprechend der Ergebnisse dieser Arbeit sind die beiden schnellen Zeitkonstanten der Umverteilung der Substrate im Blut und die langsame der Extraktion zuzuordnen. Abbildung 36 zeigt das entsprechende Abklingverhalten der Substratkonzentrationen im Blut nach Bolusinjektion. Dieses Abklingverhalten entsprechend

der Umverteilung des Blutes in den Kompartimenten variiert mit sämtlichen Änderungen der Hämodynamik und ist je nach Physiologie von Person zu Person, aber auch nach „Tagesform“ selbst für dieselbe Person leicht unterschiedlich. Obendrein kommt diese Umverteilung beim MBT gleich zweimal zum Tragen: Beim Transport des ^{13}C -Methacetins nach Injektion zur Leber und nach der Metabolisierung beim Transport des ^{13}C -Bikarbonates durch die Blutkompartimente bis zur Abatmung. Sie spielt daher eine Schlüsselrolle bei dem Ansatz der Entfaltung, mit dem die zeitaufgelöste Metabolisierungsrate des Methacetins bestimmt wird.

9.4 VORSCHLÄGE FÜR DIE POTENZIELLE VERBESSERUNG VON SIMULATIONSMODELLEN BEZÜGLICH MBTs

Für Forschungsvorhaben zur weiteren Verbesserung der Simulationsmodelle und des Verständnisses der physiologischen Vorgänge beim MBT, zur Erlangung weiterer Erkenntnisse bezüglich der damit im Zusammenhang stehenden Pharmakokinetik und somit beispielsweise auch für die Planung potenzieller Atemtests für andere Organe wird empfohlen, künftig die physiologischen Parameter: Herzfrequenz, CO_2 -Abatmung und Atemfrequenz messbegleitend und zeitaufgelöst aufzunehmen. Sofern die Möglichkeit besteht, die Umverteilungsdynamik innerhalb der Blutkompartimente mitzubestimmen, wie es beispielsweise mit dem ICG-Test oder dem 2DOB-Test prinzipiell möglich ist, sollte dies ebenfalls geschehen. Entsprechend der Ergebnisse dieser Arbeit, wird für Modelle zur Simulation der DOB-Kinetik empfohlen, die vorgestellte Sättigungsdynamik und potenziell verringerte Perfusion möglichst zu berücksichtigen. Als Beispiel können hier die Simulationen entsprechend dem Modell von König et al. betrachtet werden. Wie in den Abbildungen: Abbildung 8 bis Abbildung 17 in Abschnitt 6.2.2 anhand der exemplarisch ausgewählten Simulationen von MBT-Studien mit oraler und IV Verabreichung erkennbar ist, stimmen die Simulationen zwar größtenteils im Rahmen der Unsicherheiten mit den Messergebnissen überein, zeigen aber alle systematisch deutliche Abweichungen von der Form, was ggf. auf die Vernachlässigung der Sättigung und somit der variablen Extraktionsrate zurückzuführen sein könnte.

In den Fällen mit oraler Verabreichung wird der besonders anfängliche Peak der DOB-Kinetik nicht richtig wiedergegeben. Im Zusammenhang mit den in dieser Arbeit vorgestellten Sättigungseffekten folgt die Hypothese, dass bei der oralen Verabreichung durch die Verzögerung durch den Magen-Darm-Trakt die Methacetinkonzentration im Blut deutlich geringer ist als bei der IV Bolusinjektion und somit der Sättigungseffekt entsprechend geringer ausfällt. Das bedeutet, dass die Extraktionsrate höher ist als bei der IV Verabreichung. Außerdem passiert sämtliches Methacetin über die Pfortader zunächst direkt die Leber und

der größte Anteil kann somit gleich extrahiert und metabolisiert werden, noch bevor dieser Methacetinanteil in die anderen Blutkompartimente gelangen kann. Es ist also mit einem höheren Peak und einem schnelleren Abklingen der DOB-Kinetik als bei IV Bolusinjektion zu rechnen.

Auch für die mit demselben Modell simulierten LiMAX-Kinetiken der im Rahmen dieser Arbeit statistisch ausgewerteten 10100 Messreihen ist anzunehmen, dass die Berücksichtigung der in dieser Arbeit gezeigten Sättigungseffekte und der verlangsamten Anflutung durch die schlechtere Perfusion der Leber bei Gewebsveränderung zu einer deutlichen Minimierung der Abweichungen zwischen den Messergebnissen und den Simulationen führen wird. Die Begründung hierfür ist, dass bei allen simulierten Kinetiken der anfängliche Anstieg deutlich zu steil ist, was für eine zu hohe Extraktionsrate ohne Sättigung bei hohen Methacetin-Konzentrationen im Blut spricht.

9.5 2DOB-TEST UND VARIATION DER CO₂-PRODUKTION, HERZFREQUENZ UND ABATMUNG

Der 2DOB-Test misst das Abklingverhalten entsprechend der Umverteilung des Blutes in den Kompartimenten anhand des zu Beginn des Testes injizierten Bikarbonates. Da sich die CO₂-Produktion, die Herzfrequenz und die CO₂-Abatmung typischerweise erst langsam in den ersten zehn bis fünfzehn Minuten nach Einnahme der Ruhelage durch die Testperson ausreichend stabilisieren, ist es unwahrscheinlich, dass der im Testprotokoll beschriebene zeitliche Ablauf es ermöglicht, die Bikarbonat-Dynamik ausreichend gut zu bestimmen, um damit das Testergebnis korrigieren zu können. Hat sich die Dynamik bereits stabilisiert und wird durch die Minimierung der Bewegung und das gleichmäßige Atmen des Probanden möglichst konstant gehalten, liefert dieser Ansatz eine potenzielle Verbesserung. Wünschenswert wäre es, wenn die Bestimmung der Umverteilung und der eigentliche MBT zeitgleich stattfinden können, damit hier keine Zeit verloren geht. Eine Möglichkeit hierfür wäre die Verwendung eines Substrates mit einer alternativen Isotopenmarkierung, beispielsweise Bikarbonat mit dem Sauerstoffisotop ¹⁸O und dazu zur Sicherstellung der Konstanz von CO₂-Produktion und Umverteilungsdynamik, die zeitaufgelöste Messung der Herzfrequenz und der abgeatmeten CO₂-Menge, wie weiter oben beschrieben.

9.6 BESTIMMUNG DER ZEITAUFGELÖSTEN METABOLISIERUNGSRATEN MITTELS ENTFALTUNG

Wie im Abschnitt „Neuer Ansatz: Entfaltung mit der Umverteilungsdynamik“ beschrieben, lassen sich aus den DOB-Kinetiken mittels Entfaltung mit der jeweiligen Abklingfunktion für die

Bikarbonatkinetik die zeitaufgelösten Metabolisierungsraten bestimmen (siehe Abbildung 37). Im Vergleich zu den bereits spezifischen DOB-Kinetiken weisen die somit bestimmten Kurvenformen der Metabolisierungsraten noch deutlichere Unterschiede auf. Besonders groß sind diese Unterschiede in den ersten 2-3 Minuten, wenn die Methacetinkonzentration im Blut noch sehr hoch ist und sich Sättigungseffekte am meisten bemerkbar machen.

Ein weiterer bemerkenswerter Punkt ist, dass für die Gruppen 4-7 eine zweite Zeitkonstante für das Anwachsen der Metabolisierungsrate deutlich erkennbar wird und das Maximum nicht in den ersten 5 Minuten, sondern erst später erreicht wird. Die Hypothese hierzu lautet, dass für die Gruppen 4-7 mit deutlich schlechterer Leberfunktion bis hin zum Leberversagen eine langsame Perfusion der Leber aufgrund der potenziell zirrhotischen Struktur erwartet wird. Ablagerungen im Disse-Raum, knotig-inhomogen umgebaute Strukturen im Leberparenchym und verdickte Bindegewebssepten sind hier vermutlich der Grund, weshalb viele Hepatozyten erst deutlich später mit Methacetin angeflutet werden.

9.7 SÄTTIGUNG (METABOLISIERUNGSRATEN ENTSPRECHEND

METHACETINKONZENTRATION IM BLUT JE NACH LEBERZUSTAND)

Abbildung 37 zeigt die für die sieben Gruppen unterschiedlicher Leberzustände bestimmten Metabolisierungsraten in Abhängigkeit der Methacetinkonzentration im Blut. Während bei Gruppe 1 (gesunde Leber) kaum ein Abflachen erkennbar ist und somit keine merkliche Sättigung eintritt (in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Pouria Taheri bezüglich der Dosis-Sport-Studie), ist bei den Gruppen 2-7 ein deutliches Abflachen und somit eine Nichtlinearität gleichbedeutend einer Sättigung erkennbar.

Bei der beschriebenen Abflachung werden in dieser Arbeit zwei mögliche Ursachen aufgezeigt: Die Anflutung (beispielsweise verzögert durch eine schlechtere Perfusion der Leber) und der besagte Sättigungseffekt. Dass der Sättigungseffekt hierbei dominiert und zeigt sich durch die präsentierten Ergebnisse der Dosis-Sport-Studie, bei denselben Testpersonen unterschiedliche Dosen verabreicht wurden. Die Perfusion der Leber bleibt bei der jeweils selben Testperson individuell gleich und ist unabhängig von der verabreichten Dosis, was durch die gute Reproduzierbarkeit beim Vergleich von den Tagen D1 und D2 gezeigt wurde. Folglich müssen die in Abbildung 39, Abbildung 41 und Abbildung 42 gezeigten Verläufe der Metabolisierungsrate ausschließlich von der Dosis, also der Methacetinkonzentration im Blut (BMC) abhängen. Bei oraler Methacetin-Verabreichung könnte die Verzögerung durch den Magen-Darm-Trakt von der verabreichten Menge abhängen. Durch die IV Bolusinjektion ist die BMC aber wohl definiert und bei x-facher Dosis (unter Vernachlässigung des Sättigungseffektes beim bereits metabolisierten Anteil) genau x-mal größer als bei einfacher

Dosis, wie auch in Abbildung 37 für den skalierten Verlauf der BMC bei doppelter Dosis zu erkennen ist. Dies bedeutet aber gerade, dass die verringerten relativen Metabolisierungsraten in Abhängigkeit von der BMC bei den Ergebnissen für die dosisabhängigen Messungen ausschließlich von der BMC selbst abhängen, was aber gerade die Definition des Sättigungseffektes ist.

Einer der drei Aspekte der für diese Arbeit motivierenden und relevanten Fragestellung, ob beim LiMAX-Test bereits Sättigungseffekte einen Einfluss haben, kann daher mit ja beantwortet werden. Es wurde eindeutig belegt, dass selbst bei Probanden mit guter Leberfunktion Sättigungseffekte innerhalb der ersten Minuten des Tests auftreten.

Entsprechend kommt es zu folgender Hypothese: Vor allem in den ersten Minuten des LiMAX-Tests ist die BMC sehr hoch und entsprechend ist die Gesamtheit aller funktionstüchtigen Hepatozyten für die Metabolisierung relevant. Ein stärkerer Sättigungseffekt und ein somit langsamerer Anstieg der DOB-Kinetik bzw. je nach Blutumverteilung auch weniger stark ausgeprägter Peak beim DOB-Maximum sind demnach auch schon bei leichten Verschlechterungen der Leberleistung frühzeitige, also sensitive und spezifische Indikatoren. Das verdeutlicht, weshalb der LiMAX-Test beispielsweise auch schon bei leichten Fibrosen (Gruppe 2) sehr sensitiv ist, im Gegensatz zu anderen etablierten Tests, wie dem MELD-Score oder dem CTP-Score.

9.8 SIMULATION DER DOB-KINETIK AUS DER METABOLISIERUNGSRATE

Abbildung 45 zeigt die simulierten DOB-Kinetiken für die 7 Gruppen unterschiedlicher Leberzustände, basierend auf der Faltung der Bikarbonat-Dynamik mit den Metabolisierungsraten dargestellt in Abbildung 37 (bester Fit mit der Summe aus drei Exponentialfunktionen, wobei die Summe der Amplituden gleich null gesetzt wird). Die simulierten Werte stimmen so ausgezeichnet mit den DOB-Kinetiken überein, dass in Abbildung 45, abgesehen von der typischen Streuung der Messwerte, keine Abweichungen erkennbar sind.

Dies bedeutet aber auch, dass sich sämtliche Kurvenformen der DOB-Kinetiken, unterschiedlichster Leberfunktionen, unter Berücksichtigung von Anflutung und Sättigungsverhalten vollständig beschreiben lassen, wenn die Umverteilungsfunktionen für Methacetin und Bikarbonat (welche beide bereits durch die Bikarbonat-Dynamik in sehr guter Näherung wiedergegeben werden) bekannt sind und daher idealerweise möglichst konstant während der Dauer des Tests bleiben.

9.9 HYPOTHESE ZUM UNTERSCHIED ZWISCHEN ORALER VERABREICHUNG UND IV VERABREICHUNG IM BOLUS IM ZUSAMMENHANG MIT SÄTTIGUNGSEFFEKTEN

Ein Sättigungseffekt bedeutet, dass der Extraktionskoeffizient (Literaturwert (35): $E > 80\%$) geringer wird, je höher die Blut-Methacetin-Konzentration (BMC) ist. Beim LiMax-Test wird IV im Bolus injiziert, um die BMC kurzzeitig zu maximieren. Der erwartete zeitliche BMC-Verlauf ist in Abbildung 36 dargestellt. Vor allem in den ersten 10 Minuten ist die BMC sehr hoch und nimmt rapide ab. Bei der oralen Verabreichung hingegen sorgt der verzögerte Transport des Methacetins aufgrund der variablen Magenentleerungszeit und der folgenden Aufnahme des Methacetins über den Darm ins Blut dafür, dass die BMC zu Beginn des Tests im Vergleich deutlich niedriger ist. Entsprechend ist aber auch der relative Anteil geringer, der die Leber passiert, ohne verstoffwechselt zu werden, da sich durch eine geringere Sättigung der Extraktionskoeffizient deutlich weniger absenken wird. Von dem über den Darm ins Blut gelangenden Methacetin passieren 100 Prozent die Leber über die Pfortader, bevor das Methacetin in andere Blutkompartimente gelangt. Ferner ist, wie eben erläutert, der Extraktionskoeffizient höher als bei einer IV Bolusinjektion, was in Kombination trotz dem verlangsamten und zeitlich gestreckten Transport ins Blut zu einem leicht erhöhten Maximum der DOB-Kinetik bei oraler Verabreichung führt. Da ein geringerer Anteil ins zirkulierende Blut gelangt, ist die BMC tendenziell bereits zehn Minuten nach der Verabreichung niedriger als bei der Bolusinjektion. Dazu weist die DOB-Kinetik bei oraler Verabreichung ein schnelles Abklingverhalten auf.

Beide Effekte zeigen sich beispielsweise im Vergleich der gemessenen DOB-Kinetik mit den Simulationen von König et al, dargestellt für mehrere Studien in Tabelle 4.

10 ZUSAMMENFASSUNG

Diese medizinwissenschaftliche Arbeit folgte meiner Diplomarbeit zur Konzeption des FLIP-Prototypen. Das FLIP-Gerät wurde für den MBT bzw. LiMax-Test entwickelt und optimiert. Diese Arbeit umfasst somit die wichtigsten Erkenntnisse bezüglich medizinisch-biologischer Einflussfaktoren auf den MBT bzw. LiMax-Test, welche ich mir in der folgenden Zeit erarbeiten durfte.

Diese hatten mit der Fragestellung begonnen, ob es eine merkbare Dosisabhängigkeit der Methacetin-Extraktionsrate gibt, umfassen drei umfangreiche Studien und enden mit exzellent übereinstimmenden Simulationen der erarbeiteten typischen DOB-Kintikformen basierend auf der hergeleiteten Methacetin-Metabolisierungsrate in Abhängigkeit der Methacetin-Konzentration im Blut und der validierten Blutumverteilungskinetik.

Aufgrund des Umfangs der Fragestellung sowie der Komplexität und Vielzahl der 17 Teilergebnisse fasse ich diese nun in einer Tabelle zusammen.

Tabelle 8: Übersicht der Ergebnisse dieser Arbeit inklusive Verlinkungen und Selbsteinschätzung der Relevanz

Nr.	Ergebnisse	Abschnitt	Relevanz
1	Die CO ₂ -Produktion lässt sich mit dem FLIP direkt mit einer relativen Genauigkeit von einem Prozent bestimmen. Die designte Mischkammer trägt dazu bei, dass die störenden CO ₂ -Konzentrationsschwankungen in der Ausatemluft minimiert werden.	8.1, 9.1	+
2	Aus 10100 DOB-Kinetiken wurden sieben typische den Leberzustand repräsentierende Kurvenformen bestimmt, welche der Validierung der Messergebnisse dienen können und sollen. Sie werden ferner für die weiteren Auswertungen sowie eigene und fremde Simulationen verwendet.	8.2.1, 9.2	+++
3	Die Streuung der einzelnen DOB-Messwerte verhindert den Mehrwert des sonst plausiblen Ansatzes auch die Zeit bis zum Erreichen des DOB-Maximums zu berücksichtigen. Die Daten zu Fitten ist ein vielversprechender Lösungsansatz. Ferner wurde die Zeit zum Erreichen des halben DOB-Maximums als neue zusätzliche Messgröße vorgeschlagen, welche vor allem bei schlechterer Leberfunktion ein hilfreiches zusätzliches Kriterium zur Einschätzung des Zustandes bietet.	8.2.2, 8.2.3	+
4	Der LiMax-Test wurde mit anderen Tests (CTP, MELD, CUM50) für eine bessere Einordnung der Ergebnisse verglichen. Hierbei zeigte sich, dass der LiMax-Test sehr sensitiv ist und bereits kleine Verschlechterungen des Leberzustandes aufzeigen kann, welche den anderen Tests entgehen.	8.2.6, 8.2.8	++
5	Von den Probandencharakteristika, die sich während des Tests definitiv nicht ändern, wurde im Zusammenhang mit 10100 analysierten Messreihen gezeigt, dass Geschlecht und Rauchverhalten Einfluss haben, während Größe, Gewicht, BMI und Alter keinen signifikanten Einfluss zeigten.	8.2.7, 9.2	+++
6	Von den Probandencharakteristika, die sich während des Tests ändern können, zeigten sowohl die CO ₂ -Produktion als auch die Blutzirkulation (und somit der Puls) einen sehr starken Einfluss.	8.4, 9.3, 9.5	+++
7	Der LiMax-Test eignet sich zur sensitiven und somit frühzeitigen Bestimmung von chemotherapieassoziierten Leberschädigungen. Dieses Ergebnis untermauert die im Vergleich zu anderen Tests hohe Sensitivität auf bereits kleine Änderungen.	8.3, 10.1	++
8	Der Ansatz zur genaueren Auswertung der DOB-Werte, einen Fit aus drei physiologisch plausiblen Exponentialfunktionen zu wählen, lieferte für die Testpersonen der Dosis-Sport-Studie die folgenden Zeitkonstanten: für die Anflutung (schnell wachsend) $\tau_1 = 2,9(1,6)$ Minuten, für die Umverteilung	8.5	++

	(mittelmäßig abklingend) $\tau_2 = 24(14)$ Minuten und für die Abatmung (langsam Abklingend) fixiert auf $\tau_3 = 180$ Minuten. Zur Beschreibung aller typischer DOB-Kurvenformen benötigt man allerdings vier Exponentialfunktionen, zwei wachsende und zwei fallende. Das hat den Nachteil, dass in diesem Fall die gefitteten Amplituden ihre Aussagekraft verlieren, da sie aufgrund der gegenseitigen Beeinflussung deutlich größere Unsicherheiten erhalten.		
9	Bei dem direkten Vergleich der DOB-Messwerte für jeweils dieselben Testpersonen treten hier Abweichungen größer als 5 % auf. Eine naheliegende Erklärung ist die Bewegung der gesunden Testpersonen. Eine Kinetik weicht völlig von der typischen Kurvenform ab. Dies ist ein Beispiel für einen Fall, bei dem der Test nicht als valide angesehen werden darf.	8.6, 9.5	+
10	Selbst die fünfmalige Injektion von je 2 mg Methacetin je kg BW mit je einem Abstand von 10 Minuten sorgte für keine erkennbaren Sättigungseffekte bei der gesunden Testperson. Dieses Ergebnis ist in gewisser Hinsicht „irreführend“, da es nicht im Widerspruch zum Sättigungseffekt steht.	8.7	+
11	Die Metabolisierungsraten entsprechend der sieben den Leberzustand repräsentierenden Gruppen im Vergleich konnten zeitabhängig mittels Entfaltung mit der Umverteilung aus den DOB-Kinetiken bestimmt werden. Die Kurvenverläufe unterscheiden sich noch deutlicher als die der DOB-Werte.	8.8.2, 9.6	+++
12	Anhand des Vergleichs der für die Injektion der Einfachdosis und der Mehrfachdosis jeweils durch Entfaltung bestimmten Metabolisierungsraten konnten Sättigungseffekte belegt werden.	8.9, 9.7	+++
13	Eine Extrapolation der bestimmten Metabolisierungsraten bis t gegen unendlich konnte zeigen, dass die aufintegrierten Metabolisierungsraten im gleichen Verhältnis stehen wie die verabreichte Methacetindosis. Dies verdeutlicht die Güte der Simulationen.	8.9.1	+
14	Mittels der Metabolisierungsraten konnte (entgegen der gängigen Meinung) gezeigt werden, dass auch bei einer gesunden Testperson nicht einmal 40% des verabreichten Methacetins innerhalb der ersten Stunde verstoffwechselt wurden.	8.9.1	+
15	Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass sowohl das injizierte ^{13}C -Methacetin als auch das bei der Verstoffwechslung freiwerdende ^{13}C -Bikarbonat in guter Näherung der gleichen Umverteilungsfunktion folgen wie das direkt injizierte ^{13}C -Bikarbonat. Es wird nahegelegt, dass dies auch für andere Diagnostika oder Medikamente gilt, da hier die Umverteilung des Blutes den dominierenden Teil ausmacht. Diese Hypothese konnte durch einen Variationsansatz beim Fit der Metabolisierungsraten für das freiwerdende ^{13}C -Bikarbonat bestätigt werden.	8.4, 8.8.1, 8.10.1, 9.4, 9.5	+++
16	Die Metabolisierungsraten in Abhängigkeit der Methacetinkonzentration im Blut (BMC) entsprechend der sieben den Leberzustand repräsentierenden Gruppen wurden verglichen. Hierbei sind die Sättigungseffekte deutlich erkennbar.	8.10.2, 9.7	+++
17	Die vorgestellte Simulation der DOB-Kinetiken bestätigt durch ihre exzellente Übereinstimmung mit den klinischen Daten die durch die Entfaltung gefundenen Metabolisierungsraten und somit auch das Konzentrations-abhängige Sättigungsverhalten.	8.11, 9.8	+++

Mit diesen Ergebnissen lässt sich die Fragestellung dieser Arbeit: „Welche medizinisch-biologischen Faktoren haben einen merklichen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der LiMAX-Testergebnisse und deren Interpretierbarkeit?“ samt ihrer drei Teilaspekte wie nun folgend gut beantworten.

10.1 ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE BEZÜGLICH EINFLUSSFAKTOREN

Wird das LiMax-Testprotokoll korrekt eingehalten, derart dass die Testperson sich nach dem Aufsetzen der Atemmaske entsprechend ruhig verhält, so stabilisieren sich innerhalb von etwas weniger als einer Viertelstunde die physiologischen Parameter inklusive CO₂-Abatmung. Ist die Testperson hingegen unruhig und bewegt sich während des Tests zu viel, so ändern sich die Hämodynamik und die CO₂-Produktion, was eine Änderung der gemessenen DOB-Werte mit sich bringt. Eine Quantifizierung dieses Effekts wurde im Rahmen dieser Arbeit im Abschnitt „Dosis-Sport-Studie“ vorgestellt: Das DOB-Maximum sank durchschnittlich bei Benutzung des Ergometers mit 1,9-fachem Ruhepuls vor, während und nach der Methacetin-Injektion auf ein Drittel, verglichen mit dem DOB-Maximum derselben Testpersonen in Ruhe. Eine derartige Anstrengung wurde allerdings nur gewählt, damit der Effekt gut quantifizierbar wird und ist unter den typischen Testbedingungen im klinischen Alltag ausgeschlossen. Ferner hilft die Kenntnis der in Abschnitt 8.2.1 eingeführten „Standardformen“ der DOB-Kinetiken beim LiMax-Test, Abweichungen beispielsweise in Form eines kurzzeitigen Einbruchs des DOB-Wertes leicht zu erkennen, was bei der Validierung des Testergebnisses sehr hilfreich ist.

Bezugnehmend auf die einleitend genannten drei Aspekte der Fragestellungen zu den medizinisch-biologischen Einflussfaktoren auf den LiMax-Test lassen sich die Ergebnisse dieser Arbeit wie folgend zusammenfassen:

1. Von den Probandencharakteristika, die sich während des Tests definitiv nicht ändern, wurden im Zusammenhang mit 10100 analysierten Messreihen die folgenden untersucht: Geschlecht, Größe, Gewicht, BMI, Alter und Zigarettenkonsum. Bei der statistischen Auswertung hatte das Geschlecht einen kleinen Einfluss auf das erreichte DOB-Maximum und somit auch auf die Form bei den drei Gruppen: 1, 2 und 3, wobei Gruppe 1 den besten Leberzustand repräsentiert. Hier zeichnete sich bei den Männern je nach Gruppe ein im einstelligen Prozentbereich erhöhter Peak gegenüber dem Verlauf bei den Frauen aus. Ebenfalls im einstelligen Prozentbereich waren die Erhöhungen bei Rauchern gegenüber Nichtrauchern. Diese Werte sind in guter Übereinstimmung mit den in der Literatur berichteten 7%. Erwähnenswert ist an dieser Stelle noch, dass ein unmittelbares Rauchen kurz vor den MBTs hingegen das DOB-Maximum absenkt. Für die Parameter Alter, Größe und Gewicht beziehungsweise BMI konnte keine signifikante Abhängigkeit gezeigt werden. Dass es keinen merklichen Zusammenhang zwischen BMI und DOB-Maximum gibt, zeigte sich ebenfalls in unserer Studie zur Frage, ob der LiMax-Test die Diagnose von chemotherapie-

assoziierten Leberschäden vor der Resektion von kolorektalen Lebermetastasen verbessert.

2. Von den Probandencharakteristika, die sich während des Tests ändern können, wurde der Einfluss von CO₂-Produktion, Herzrate und Blutzirkulation betrachtet. Sie zeigen einen sehr starken Einfluss auf das Testergebnis. Wird beispielsweise bereits vor, während und nach der Methacetin-Injektion Sport bei 1,9-fachem Ruhepuls betrieben, dauert es deutlich länger, bis das Maximum der DOB-Kinetik erreicht wird und sein Wert sinkt auf ein Drittel, verglichen mit der Messung in Ruhe. Auch wenn die sportliche Leistung zur Quantifizierung des Einflusses absichtlich viel höher als im klinischen Alltag auftauchend gewählt wurde, wird sehr deutlich, wie wichtig es ist, die Bewegung der Probanden während der Messung entsprechend dem LiMAX-Testprotokoll möglichst auf ein absolutes Minimum zu reduzieren. Aussagen über eine mangelnde Validität des Testergebnisses können durch Abweichungen von den in dieser Arbeit aus der retrospektiven Studie von 10100 Messreihen bestimmten „standard“ DOB-Kurvenformen belegt werden.
3. Es gibt einen merklichen Sättigungseffekt. Er ist zwar bei gesunden Probanden nur minimal und auch nur kurzzeitig nach der Injektion, wenn die Methacetin-Konzentration im Blut am höchsten ist. Bei allen anderen Zuständen der Leber (Gruppe 2-7) treten hingegen deutliche Sättigungseffekte auf. Das Sättigungsverhalten erklärt, weshalb der Test bei Verwendung einer Methacetindosis von 2 mg/kg BW bereits bei kleinen Verschlechterungen des Leberzustandes wie bei einer leichten Fibrose so sensitiv und spezifisch ist, denn dann fällt der Peak der Metabolisierungskinetik sättigungsbedingt deutlich kleiner aus. In der DOB-Kinetik erkennbar durch einen langsameren Anstieg und je nach Hämodynamik einen weniger stark ausgeprägten Peak des DOB-Maximums. Die frühzeitige Erkennung von bereits kleinen Änderungen durch die hohe Spezifität und Sensitivität des Tests macht ihn neben der lebenswichtigen initialen Anwendung zur preoperativen Bestimmung der postoperativen verbleibenden Leberleistung und der Überwachung des Genesungsprozesses, auch bei Anwendungen, wie beispielsweise der quantitativen Bestimmung von chemotherapie-assoziierten Leberschädigungen, zu einer exzellenten Wahl.

11 AUSBLICK

Die erarbeiteten typischen Kurvenverläufe der DOB-Kinetiken können künftig bei der Bestimmung der Leberfunktion mittels des LiMAX-Tests für die Auswertung hinzugezogen werden, um zusätzliche Sicherheit bezüglich Testvalidität zu bieten und die bereits hervorragende Spezifität weiter zu verbessern. Eine Berücksichtigung der Formen kann beispielsweise automatisiert beim LiMAX-Test angewendet werden und somit dem Qualitätsmanagement dienen.

Ansätze wie der „2DOB-Test“ haben ein sehr großes Potenzial, den MBT weiter zu verbessern. Allerdings müssen sie die in dieser Arbeit gefundenen medizinisch-biologischen Einflüsse berücksichtigen. Hiermit ist insbesondere der Einfluss variabler CO₂-Produktionen und Umverteilungszeiten der Blutkompartimente gemeint. Die CO₂-Produktion bzw. die abgeatmete CO₂-Menge sowie der Puls können prinzipiell sehr gut und in Echtzeit messbegleitend erhoben werden. Somit können sie direkt aufzeigen, ab wann die Testperson messbereit ist. Nämlich sobald diese Werte sich stabilisiert haben. Dies geschieht typischerweise innerhalb der ersten Minuten.

Das gezeigte Verfahren zur Bestimmung der Metabolisierungsrate mittels der Entfaltung mit der Umverteilungskinetik lieferte deutlich aussagekräftigere Kinetiken mit stärkeren Peakbildungen als die DOB-Kinetiken. Insbesondere können hierbei zusätzlich verwendete Methoden hilfreich sein, welche die relevanten Anteile der Umverteilung der Blutkompartimente auf einfache und unabhängige Weise bestimmen werden können. Beispielsweise der ICG-Test in den ersten Minuten, in denen noch die Umverteilungsdynamik und nicht die Extraktionsrate das Abklingverhalten dominiert.

Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen dafür, dass die Testdauer deutlich verkürzt werden könnte. Abbildung 24 zeigt die typischen Formen der DOB-Kinetik für die ersten 12 Minuten. Auch hier sind die Kurven bereits klar getrennt und zeigen jeweils einen eindeutigen Verlauf. Dass in dieser Zeit die Aussagekraft der DOB-Kinetik besonders hoch ist, ist auch plausibel unter Betrachtung der Metabolisierungsraten (Abbildung 37) in den ersten zwei bis fünf Minuten. Hinzu kommt, dass der Einfluss der Umverteilungsdynamik größer wird, je länger der Test dauert.

Die in dieser Arbeit präsentierten neuen Ergebnisse (z.B. Sättigungsverhalten) und Ansätze (z.B. Entfaltung) können potenziell in die aktuellen Simulationsmodelle einfließen. Aufgestellte Hypothesen (z.B. Unterschied von IV und oraler Verabreichung beim MBT) können geprüft werden und somit weiter zum Verständnis der komplexen Vorgänge im Zusammenhang mit Pharmakokinetiken beitragen. Beispielsweise als Basis für neue Tests anderer Organe.

12 LITERATURVERZEICHNIS

1. **H Lau, K Man, S Fan, W Yu, C Lo, J Wong.** Evaluation of preoperative hepatic function in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. *British Journal of Surgery.* 1997, Bd. 84, S. 1255-1259.
2. **J.F. Lock, A.N. Kotobi, M. Malinowski, M. Jara, A. Schulz, P. Neuhaus, M. Stockmann.** Nichtinvasive Diagnostik der Leberfunktion in der Transplantationsmedizin. *Verdauungskrankheiten.* 2013, pp. 103-109.
3. **J. F. Lock, T. Reinhold, M. Malinowski, J. Pratschke, P. Neuhaus, M. Stockmann.** The costs of postoperative liver failure and the economic impact of liver function capacity after extended liver resection - a single-center experience. *Langenbecks Arch Surg.* 2009, pp. 1047-1056.
4. **Johan Friso Lock, Amir Nihad Kotobi, Maciej Malinowski, Antje Schulz, Maximilian Jara, Peter Neuhaus, Martin Stockmann.** Predicting the prognosis in acute liver failure: results from a retrospective pilot study using the LiMAX test. *Annals of Hepatology.* 2013, pp. 12-18.
5. **Johan Friso Lock, Eugen Schwabauer, Peter Martus, Nikolay Videv, Johann Pratschke, Maciej Malinowski, Peter Neuhaus, Martin Stockmann.** Early Diagnosis of Primary Nonfunction and Indication for Reoperation After Liver Transplantation. *LIVER TRANSPLANTATION.* 2010, pp. 172-180.
6. **Johan Friso Lock, Maciej Malinowski, Daniel Seehofer, Steffi Hoppe, Rhea Isabel Röhl, Stefan Markus Niehues, Peter Neuhaus, Martin Stockmann.** Function and volume recovery after partial hepatectomy: influence of preoperative liver function, residual liver volume, and obesity. *Langenbecks Arch Surg.* 2012, pp. 1297-1304.
7. **Lock JF, Malinowski M, Schwabauer E, Martus P, Pratschke J, Seehofer, D, Puhl G, Neuhaus P, Stockmann M.** Initial liver graft function is a reliable predictor of tacrolimus trough levels during the first post-transplant week. *Clin Transplant.* 2011, pp. 436-443.
8. **M. Stockmann, J.F. Lock, M. Malinowski, A. Scharfenberg, L. Morawietz, P. Neuhaus.** ACCURATE DIAGNOSIS AND GRADING OF CIRRHOSIS USING THE NEW LIMAX TEST. *Journal of Hepatology.* 2012, p. S422.
9. **Maciej Malinowski, Maximilian Jara, Katja Lüttgert, James Orr, Johan Friso Lock, Eckart Schott, Martin Stockmann.** Enzymatic Liver Function Capacity Correlates with Disease Severity of Patients with Liver Cirrhosis: A Study with the LiMAX Test. *Dig Dis Sci.* 2014.
10. **Magnus F Kaffarnik, Johan F Lock, Hannah Vetter, Navid Ahmadi, Christian Lojewski, Maciej Malinowski, Peter Neuhaus, Martin Stockmann.** Early diagnosis of sepsis-related hepatic dysfunction and its prognostic impact on survival: a prospective study with the LiMAX test. *Critical Care.* 2013, pp. 1-11.
11. **Magnus F. Kaffarnik, Johan F. Lock, Daniel Seehofer, Martin Stockmann, Peter Neuhaus.** Leberresektionen - was ist perioperativ zu beachten? *Viszeralmedizin.* 2011, pp. 65-73.
12. **Martin Stockmann, Johan F. Lock, Björn Riecke, Karsten Heyne, Peter Martus, Micheal Fricke, Sina Lehmann, Stefan M. Niehues, Michael Schwabe, Arne-Jörn Lemke, Peter Neuhaus.** Prediction of

Postoperative Outcome After Hepatectomy With a New Bedside Test for Maximal Liver Function Capacity. *Annals of Surgery*. 2009, pp. 119-125.

13. **Martin Stockmann, Johan F. Lock, Maciej Malinowski, Daniel Seehofer, Gero Puhl, Johann Pratschke, Peter Neuhaus.** How to define initial poor graft function after liver transplantation? - a new functional definition by the LiMAx test. *Transplant International*. 2010, pp. 1023-1032.

14. **Martin Stockmann, Johan F. Lock, Maciej Malinowski, Stefan M. Niehues, Daniel Seehofer, Peter Neuhaus.** The LiMAx test: a new liver function test for predicting postoperative outcome in liver surgery. *HPB*. 2010, pp. 139-146.

15. **Rubin, Tom.** *Physik-Diplomarbeit: Konzeption und Entwicklung eines Infrarot-Spektrometers zur Bestimmung der Konzentration von 13CO₂ und 12CO₂ im Gasfluss*. 2009.

16. **H Lau, K Man, S Fan, W Yu, C Lo, J Wong.** Evaluation of preoperative hepatic function in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. *British Journal of Surgery*. 1997, Vol. 84, pp. 1255-1259.

17. **Kelly Gebo, Franklin Herlong, Michael Torbenson, Mollie Jenckes, Geetanjali Chander, Khalil Ghanem, Samer El-Kamary, Mark Sulkowski, Eric Bass.** Role of Liver Biopsy in Management of Chronic Hepatitis C: A Systematic Review. *Hepatology*. 2002, Bd. 36, 5, S. 161-172.

18. **Chun-Tao Wai, Joel Greenon, Robert Fontana, John Kalbfleisch, Jorge Marrero, Hari Conjeevaram, Anna Lok.** A Simple Noninvasive Index Can Predict Both Significant Fibrosis and Cirrhosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Hepatology*. 2003, Bd. 38, 2, S. 518-526.

19. **Heymsfield, S B and Fulenwider, T and Nordlinger, B and Barlow, R and Sones, P and Kutner, M.** Accurate measurement of liver, kidney, and spleen volume and mass by computerized axial tomography. *Annals of internal medicine*. 1979, Bd. 2, 90, S. 185-187.

20. **Murakami, T and Mochizuki, K and Nakamura, H.** Imaging evaluation of the cirrhotic liver. *Seminars in liver disease*. 2001, Bd. 2, 21, S. 213-224.

21. **Pugh, R N H and Murray-Lyon, I M and Dawson, J L and Pietroni, M C and Williams, R.** Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *British Journal of Surgery*. 1973, Bd. 8, 60, S. 646-649.

22. **Kamath, P S and Wiesner, R H and Malinchoc, M and Kremers, W and Therneau, T M and Kosberg, C L and D'Amico, G and Dickson, E R and Kim, W.** A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*. 2001, Bd. 2, 33, S. 464-470.

23. **Sandrin, L and Fourquet, B and Hasquenoph, J-M and Yon, S and Fournier, C and Mal, F and Christidis, C and Ziol, M and Poulet, B and Kazemi, F and others.** Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound in medicine & biology*. 2003, Bd. 12, 29, S. 1705-1713.

24. **Imbert-Bismut, F and Ratziu, V and Pieroni, L and Charlotte, F and Benhamou, Y and Poinard, T and others.** Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *The Lancet*. 2001, 357, S. 1069-1075.

25. **Kawasaki, S and Sugiyama, Y and Iga, T and Hanano, M and Sanjo, K and Beppu, T and Idezuki, Y.** Pharmacokinetic study on the hepatic uptake of indocyanine green in cirrhotic patients. *American Journal of Gastroenterology*. 1985, Bd. 10, 80.

26. **B. Barden, B. Lembcke, W. Kuker, W Caspary.** 13 C-breath tests: Current state of the art and future directions. *DigLiverDis.* 2007, Vol. 39, pp. 795-805.
27. **Stockmann, Martin.** *Habilitation thesis: Wertigkeit eines neu entwickelten Verfahrens zur Bestimmung der Leberfunktion in der Leberchirurgie (LiMAx-Test).* 2009. p. 58.
28. **M. Stockmann, M. Malinowski, J. F. Lock, D. Seehofer, P. Neuhaus.** Factors influencing the indocyanine green (ICG) test: additional impact of acute cholestasis. *Hepato-gastroenterology.* 2009, Vols. 91-92, 56, pp. 734-738.
29. **Holzhütter, H. G., Wuensch, T., Gajowski, R., Berndt, N., Bulik, S., Meierhofer, D., & Stockmann, M.** A novel variant of the 13 C-methacetin liver function breath test that eliminates the confounding effect of individual differences in systemic CO₂ kinetics. *Archives of toxicology.* 2020, Vol. 2, 94, pp. 401-415.
30. **D. DeBois, E. DeBois.** A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Archives of Internal Medicine.* 1916, 17, S. 863-871.
31. **Rubin, Tom Moses and Heyne, Karsten and Luchterhand, Axel and Bednarsch, Jan and Vondran, Florian WR and Polychronidis, Georgios and Malinowski, Maciej and Nikolic, Alen and Tautenhahn, Hans-Michael and Jara, Maximilian and others.** Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous 13C-methacetin breath tests. *Journal of breath research.* 2017, Vol. 12, 1, p. 016005.
32. **Taheri, Pouria.** *Dissertation: Untersuchung von 13CO₂ Entstehung, Verteilung und Ausscheidung zur verbesserten Interpretation der Ergebnisse beim 13C-Methacetin Atemtest zur Messung der enzymatischen Leberfunktion.* 2017.
33. **Neil Herring, David J. Paterson.** *Levick's introduction to cardiovascular physiology.* s.l. : CRC Press, 2018.
34. **H. M. Jones, K. Rowland-Yeo.** Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *pharmacometrics & systems pharmacology.* 2013, Vol. 8, 2, pp. 1-12.
35. **Armuzzi, Alessandro and Candelli, Marcello and Zocco, Maria Assunta and Andreoli, A and De Lorenzo, A and Nista, Enrico Celestino and Miele, Luca and Cremonini, Filippo and Cazzato, Immacolata Alessia and Grieco, Antonio and others.** Breath testing for human liver function assessment. *Alimentary pharmacology & therapeutics.* 2002, Vol. 12, 16, pp. 1977-1996.
36. **Guengerich, F. P., and Johnson, W. W.** Kinetics of ferric cytochrome P450 reduction by NADPH-cytochrome P450 reductase: rapid reduction in the absence of substrate and variations among cytochrome P450 systems. *Biochemistry.* 1997, Bd. 48, 36, S. 14741-147500.
37. **Guengerich, F. P., Krauser, J. A., & Johnson, W. W.** Rate-limiting steps in oxidations catalyzed by rabbit cytochrome P450 1A2. *Biochemistry.* 2004, Vol. 33, 43, pp. 10775-10788.
38. **Barstow, T. J., Cooper, D. M., Sobel, E. M., Landaw, E. M., Epstein, S.** Influence of increased metabolic rate on [13C] bicarbonate washout kinetics. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 1990, Vol. 1, 259, pp. R163-171.
39. **Nikolaus Berndt, Sascha Bulik, Iwona Wallach, Tilo Wunsch, Matthias König, Martin Stockmann, David Meierhofer, Hermann-Georg Holzhütter.** HEPATOKIN1 is a biochemistry-based model of liver

metabolism for applications in medicine and pharmacology. *Nature communications*. 1, 2018, 9, pp. 1-12.

40. *A sensitive isotope selective nondispersive infrared spectrometer for $^{13}\text{CO}_2$ and $^{12}\text{CO}_2$ concentration measurements in breath samples.* Haisch, M., Hering, P., Fuss, W., & Fabinski, W. 2-3, 1994, *Isotopes in Environmental and Health Studies*, Bd. 30, S. 247-251.

41. **Graham, D., Evans JR, D., Alpert, L., Klein, P., Evans, D., Opekun, A., & Boutton, T.** Campylobacter pylori detected noninvasively by the ^{13}C -urea breath test. *The Lancet*. 1987, Vol. 8543, 329, pp. 1174-1177.

42. **Börsch, G., Adamek, R., Sandmann, M., Wegener, M., Schmidt, G., Leverkus, F., Reitemeyer, E.** Comparison of biopsy urease test and histologic examination for detection of campylobacter pylori in duodenal, antral and fundic biopsies. *Hepato-gastroenterology*. 1987, Vol. 5, 34, pp. 236-241.

43. **Rubin, T., Von Haimberger, T., Helmke, A., Lock, J., Stockmann, M., & Heyne, K.** Liver status assessment by spectrally and time resolved IR detection of drug induced breath gas changes. *Photonics*. 2016, Vol. 2, 3, pp. 31-41.

44. **Lock, J. F., Westphal, T., Rubin, T., Malinowski, M., Schulz, A., Jara, M., Bednarsch, J., Stockmann, M.** LiMAX test improves diagnosis of chemotherapy-associated liver injury before resection of colorectal liver metastases. *Annals of surgical oncology*. 2017, Vol. 9, 24, pp. 2447-2455.

45. **Björn Riecke, Peter Neuhaus, Martin Stockmann.** Major Influence of Oxygen Supply on $^{13}\text{CO}_2$: $^{12}\text{CO}_2$ Ratio Measurement by Nondispersive Isotope-Selective Infrared Spectroscopy. *HELICOBACTER*. 2005, Bd. 10, 6, S. 620-622.

46. **Kelly Gebo, Franklin Herlong, Michael Torbenson, Mollie Jenckes, Geetanjali Chander, Khalil Ghanem, Samer El-Kamary, Mark Sulkowski, Eric Bass.** Role of Liver Biopsy in Management of Chronic Hepatitis C: A Systematic Review. *Hepatology*. 2002, Vol. 36, 5, pp. 161-172.

47. **Chun-Tao Wai, Joel Greenon, Robert Fontana, John Kalbfleisch, Jorge Marrero, Hari Conjeevaram, Anna Lok.** A Simple Noninvasive Index Can Predict Both Significant Fibrosis and Cirrhosis in Patients With Chronic Hepatitis C. *Hepatology*. 2003, Vol. 38, 2, pp. 518-526.

48. **B. Barden, B. Lembcke, W. Kuker, W Caspary.** ^{13}C -breath tests: Current state of the art and future directions. *DigLiverDis*. 2007, Bd. 39, S. 795-805.

49. **Henderson, Michael.** Abnormal Splanchnic and Systemic Hemodynamics of End-stage Liver Disease: What Happens After Liver Transplantation? *Hepatology*. 1993, Bd. 17, 3, S. 514-516.

50. **Miquel Navasa, Faust Feu, Joan Carles García-Pagán, Wladimiro Jimenez, Josep Llach Antoni Rimola, Jaume Bosch, Joan Rode.** Hemodynamic and Humoral Changes After Liver Transplantation in Patients with Cirrhosis. *Hepatology*. 1993, Bd. 17, 3, S. 355-360.

13 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

„Ich, Tom Moses Rubin, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Leberfunktionstest mittels Atemgasanalyse sowie mögliche Einflüsse auf die Messergebnisse am Beispiel des ¹³C-Methacetin Atemtests / LiMAx-Tests“; „Liver function test using breath gas analysis and possible influences on the measurement results using the example of the ¹³C-methacetin breath test / LiMAX test“ 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.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

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) 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.“

30. August 2022

Datum

Unterschrift

13.1 ANTEILSERKLÄRUNG AN DEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN

Tom Moses Rubin hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Tom Moses Rubin, Karsten Heyne, Axel Luchterhand, Jan Bednarsch, Florian W. R. Vondran, Georgios Polychronidis, Maciej Malinowski, Alen Nikolic, Hans-Michael Tautenhahn, Maximilian Jara, Tilo Wunsch, Martin Stockmann and Johan Friso Lock; "Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous ¹³C-methacetin breath tests."; *Journal of breath research*; 2017

Beitrag im Einzelnen (Komplett: Planung und Durchführung der retrospektiven Studie, Programmierung der zur Auswertung benötigten Skripte, Erstellung des Artikel-Manuskriptes und sämtlicher Grafiken und Tabellen)

Publikation 2: Tom Moses Rubin, Theodore Von Haimberger, Alexander Helmke, Johan Lock, Martin Stockmann und Karsten Heyne; "Liver status assessment by spectrally and time resolved IR detection of drug induced breath gas changes." *Photonics*; 2016

Beitrag im Einzelnen (Maßgeblicher Anteil: Design und Realisierung des FLIP Prototypen sowie der LASER-Temperaturregelung, Begleitung der Voruntersuchungen am Probanden. Anteilige (jeweils zu etwa 50%): Programmierung der Software, Design der Ausatemluftmischkammer, Begleitung der folgenden Messungen am Probanden, Erstellung des Artikel-Manuskripts)

Publikation 3: Johan F. Lock, Tilman Westphal, Tom Rubin, Maciej Malinowski, Antje Schulz, Maximilian Jara, Jan Bednarsch und Martin Stockmann; "LiMAx test improves diagnosis of chemotherapy-associated liver injury before resection of colorectal liver metastases." *Annals of surgical oncology*; 2017

Beitrag im Einzelnen (Anteilige je zu etwa 10 %: Begleitung von Messungen am Probanden, Diskussion möglicher Einflussfaktoren auf den Test, Beitrag zur Ausarbeitung des Artikels)

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

14 LEBENSLAUF

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

15 PUBLIKATIONSLISTE

1. T. Rubin, *Konzeption und Entwicklung eines Infrarot-Spektrometers zur Bestimmung der Konzentration von $^{13}\text{CO}_2$ und $^{12}\text{CO}_2$ im Gasfluss*. Dipl. Freie Universität Berlin, 2009
2. T. Rubin, T. Von Haimberger, A. Helmke, and K. Heyne, *Quantitative determination of metabolization dynamics by a realtime $^{13}\text{CO}_2$ breath test*. Journal of breath research, 5(2), p.027102, 2011
3. T. Rubin, T. Von Haimberger, A. Helmke, J. Lock, M. Stockmann, and K. Heyne. *Liver status assessment by spectrally and time resolved ir detection of drug induced breath gas changes*. Photonics, (3), p.31, 2016
4. T. Rubin, *Präzise Partialdruckbestimmung bei der Atemgasanalyse und in der Metrologie*. Diss. Freie Universität Berlin, 2017
5. J. Lock, et al., *LiMAx test improves diagnosis of chemotherapy-associated liver injury before resection of colorectal liver metastases*. Annals of surgical oncology, 24(9), p.2447, 2017
6. T. Rubin, K. Heyne, A. Luchterhand, J. Bednarsch, F. Vondran, G. Polychronidis, M. Malinowski, A. Nikolic, H. Tautenhahn, M. Jara, T. Wünsch, M. Stockmann and J. Lock, *Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous ^{13}C -methacetin breath tests*. Journal of breath research, 12(1), p. 016005, 2017
7. T. Rubin, Dissertation, *Präzise Partialdruckbestimmung bei der Atemgasanalyse und in der Metrologie*, (2017)
8. K. Jousten, et al., *Perspectives for a new realization of the pascal by optical methods*. Metrologia 54(6), p.S146, 2017
9. S. Avdiaj, Y. Yang, K. Jousten, T. Rubin, *Note: Diffusion constant and solubility of helium in ULE glass at 23 °C*. The Journal of Chemical Physics 148(11), p. 116101, 2018
10. Y. Yang, T. Rubin. *Simulation of pressure induced length change of an optical cavity used for optical pressure standard*. Journal of Physics: Conference Series. 1065(16), 2018
11. J. Zakrisson, I. Silander, C. Forssén, Z. Silvestri, D. Mari, S. Pasqualin, A. Kussicke, P. Asbahr, T. Rubin, O. Axner, *Simulation of pressure-induced cavity deformation – the 18SIB04 Quantumpascal EMPIR project*, ACTA IMEKO, 9. Jg., Nr. 5, S. 281-286. 2020
12. T. Bock, M. Bernien, C. Buchmann, T. Rubin, K. Jousten, *Investigation of the effects of valve closing in a static expansion system*, Vacuum, Nr. 184, S. 109918, 2021
13. Y. Yang, T. Rubin, & J. Sun, *Characterization of a vacuum pressure standard based on optical refractometry using nitrogen developed at NIM*. Vacuum, 194, S. 110598, 2021
14. T. Rubin, M. Sarrazin, N. F. Zobov, J. Tennyson, & O. L. Polyansky, *Sub-percent accuracy for the intensity of a near-infrared water line at $10,670\text{ cm}^{-1}$: experiment and analysis*. Molecular Physics, S. e2063769, 2022
15. F. Herklotz, T. Rubin, M. Sinnreich, A. Helmke, T. von Haimberger, & K. Heyne, *Fast Simultaneous CO_2 Gas Temperature and Concentration Measurements by Quantum Cascade Laser Absorption Spectroscopy*. Applied Sciences, 12(10), S. 5057, 2022

16. T. Rubin, I. Silander, J. Zakrisson, M. Hao, C. Forssén, P. Asbahr, ... & O. Axner, *Thermodynamic effects in a gas modulated Invar-based dual Fabry–Pérot cavity refractometer*. Metrologia, 59(3), S. 035003, 2022
17. F. Herklotz, T. Rubin, T. von Haimberger & K. Heyne, *CO₂ Gas Temperature Sensing near Room Temperature by a Quantum Cascade Laser in Inter Pulse Mode*. In Photonics (Vol. 9, No. 7, S. 465). MDPI, 2022
18. I. Silander, J. Zakrisson, V.S. de Oliveira, C. Forssén, A. Foltynowicz, T. Rubin, ... & O. Axner, *In situ determination of the penetration depth of mirrors in Fabry-Perot refractometers and its influence on assessment of refractivity and pressure*. Optics Express, 30(14), S. 25891-25906, 2022

16 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich folgenden Personen danken:

Martin Stockmann danke ich für die Betreuung als Mentor dieser Arbeit.

Johan Lock danke ich für zahlreiche Diskussionen, gemeinsame Messabende und die gute und hilfreiche Zusammenarbeit.

Karsten Heyne, danke ich für die Möglichkeit einer anwendungsbezogenen Physikdiplomarbeit mit dem Thema, das spätere Messverfahren des FLIP-Gerätes zu entwickeln. **Anja Heyne** und **Sven Augustin** für die gute Zusammenarbeit im Team des Exist-Stipendiums, ohne das es wohl nie zu einem FLIP-Gerät gekommen wäre.

Theodore Von Haimberger - möge er in Frieden ruhen - danke ich für das gemeinsame Programmieren der Software des FLIP-Prototypen.

Dem Team von **HUMDICS**, besonders **Alexander Helmke** für das gemeinsame Fertigen und Testen der ersten FLIP-Prototypen.

All jenen danke ich, die den LiMAx-Test im klinischen Alltag anwenden und somit auch dabei geholfen haben, die Grundlage für diese Arbeit zu legen, wie z.B. die 10100 DOB-Kinetiken zu erheben, besonders:

Alen Nikolic, Antje Schulz, Axel Luchterhand, Florian W. R. Vondran, Georgios Polychronidis, Hans-Michael Tautenhahn, Jan Bednarsch, Maciej Malinowski, Maximilian Jara, Tilman Westphal und **Tilo Wünsch**.

Den Mitarbeitern meiner Arbeitsgruppe: „Photonische Druckmessung“ danke ich – und hier besonders **André Kussicke** für seinen Einsatz.

Den Menschen möchte ich danken, die mir privat besonders am Herzen liegen – Meiner ganzen Familie, aber besonders **Kassandra & Christine, Harald & Gaby** und **Dennis** – möge auch er in Frieden ruhen - sowie meinen Freunden **Anna-Barbara, Martin, Aurely und Lina**, die nur allzu häufig auf Zeit mit mir Verzichteten und mir den Rücken freihalten, damit ich die Möglichkeit zum Forschen habe.

Ein herzliches Dankeschön an Euch alle!