

DISSERTATION

Untersuchung der enzymatischen Leberfunktion bei Fontan-  
Patienten

Analysis of enzymatic liver function in Fontan patients

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Marta Pileckaite

Erstbetreuung: Prof. Dr. Felix Berger

Datum der Promotion: 29.11.2024



## **Vorwort**

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in:

Schleiger A, Kramer P, Sallmon H, Jentsch N, Pileckaite M, Danne F, Schafstedde M, Müller HP, Müller T, Tacke F, Jara M, Stockmann M, Berger F, Ovroutski S.

Morphologic Alterations Precede Functional Hepatic Impairment as Determined by <sup>13</sup>C-Methacetin Liver Function Breath Test in Adult Fontan Patients. *Front Cardiovasc Med.* 2021 Dec 23;8:764009. doi: 10.3389/fcvm.2021.764009.

Schleiger A, Kramer P, Sallmon H, Jentsch N, Pileckaite M, Danne F, Schafstedde M, Müller HP, Müller T, Tacke F, Jara M, Stockmann M, Berger F, Ovroutski S. Functional hepatic deterioration determined by <sup>13</sup>C-methacetin breath test is associated with impaired hemodynamics and late Fontan failure in adults. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Sep 7;9:952080. doi: 10.3389/fcvm.2022.952080.

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis .....	4
Tabellenverzeichnis .....	5
Abkürzungsverzeichnis .....	6
Abstrakt .....	7
Abstract .....	9
1. Einleitung .....	11
1.1. Funktionell univentrikuläre Zirkulation .....	11
1.2. Fontan-Operation und ihre Modifikationen .....	11
1.3. Fontan-assoziierte Lebererkrankung ( <i>Fontan-associated liver disease</i> , FALD)..	13
1.4. Leberuntersuchungen bei Fontan-Patienten .....	16
1.4.1. Leberultrasonographie .....	16
1.4.2. Transiente Elastographie .....	17
1.4.3. LiMAx®-Test .....	18
1.5. Fragestellungen und Zielsetzung der Arbeit .....	19
2. Methodik .....	20
2.1. Studiendesign und Patientenkollektiv .....	20
2.2. Hepatisches Nachsorgeprogramm .....	20
2.3. Einteilung der FALD in Schweregrade .....	21
2.4. Untersuchung der enzymatischen Leberfunktion mittels LiMAx®-Test .....	23
2.5. Statistische Analyse .....	25
3. Ergebnisse .....	27
3.1. Patientenmerkmale .....	27
3.2. Bewertung der Leberfunktion .....	28
4. Diskussion .....	35
4.1. Bedeutung und Anwendung des LiMAx®-Tests in der Nachsorge von Fontan- Patienten .....	35
4.2. Bedeutung der maximalen Leberfunktionskapazität für die Evaluation für eine Herz- oder Herzlebertransplantation .....	38
4.3. Limitationen .....	39
5. Zusammenfassung und Ausblick .....	40
Literaturverzeichnis .....	42
Eidesstattliche Versicherung .....	48



Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen .....	49
Lebenslauf.....	50
Publikationsliste .....	51
Danksagung .....	52
Bescheinigung Statistik .....	53

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Modifikationen der Fontan-Operation.....	13
Abbildung 2: Histopathologie der Leber eines Fontan-Patienten.....	14
Abbildung 3: Pathophysiologie der FALD. ....	15
Abbildung 4: Sonographiebefunde bei Fontan-Patienten. ....	17
Abbildung 5: Transiente Elastographie (FibroScan®).....	18
Abbildung 6: CONSORT-Flussdiagramm zum Einschlussprozess der Patienten. ....	20
Abbildung 7: Formel zur Berechnung des LiMAx®-Wertes.....	23
Abbildung 8: Schematische Darstellung des LiMAx®-Tests. ....	24
Abbildung 9: Interpretation des LiMAx®-Wertes. ....	25
Abbildung 10: Korrelation zwischen maximaler Leberfunktionskapazität und der Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation. ....	31
Abbildung 11: Darstellung der maximalen Leberfunktionskapazität in Abhängigkeit von den FALD Schweregraden.....	34

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: FALD-Score.....	22
Tabelle 2: Einteilung der Schweregrade von FALD. ....	22
Tabelle 3: Patientenmerkmale. ....	28
Tabelle 4: Laboruntersuchung, Leberultrasonographie und TE.....	30
Tabelle 5: LiMAx®-Testergebnisse. ....	31
Tabelle 6: LiMAx®-Testergebnisse und Laborwerte. ....	32
Tabelle 7: LiMAx®-Testergebnisse und Sonographiebefunde.....	33
Tabelle 8: LiMAx®-Testergebnisse und TE. ....	33

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ALT	Alanin-Aminotransferase
APC	<i>Atriopulmonary connection</i> / Atriopulmonale Konnektion
ARL/HLL	Atropher rechter Leberlappen/hypertropher linker Leberlappen
AST	Aspartat-Aminotransferase
AVC	<i>Atrioventricular connection</i> / Atrioventrikuläre Konnektion
KG	Körpergewicht des Patienten
DILV	<i>Double Inlet Left Ventricle</i> / Doppelter Einlass des linken Ventrikels
DOB <sub>max</sub>	<i>Maximal Delta Over Baseline</i>
FALD	<i>Fontan-associated liver disease</i> / Fontan-assoziierte Lebererkrankung
IQR	<i>Interquartile range</i> / Interquartilsabstand
LiMA <sub>x</sub>	<i>Maximum liver function capacity</i> / Maximale Leberfunktionskapazität
M	Molare Masse des <sup>13</sup> C-Methacetin
MR-Angiographie	Magnetresonanzangiographie
MRT	Magnetresonanztomographie
ORG	Obere Referenzgrenze
P	Geschätzte CO <sub>2</sub> -Produktionsrate (300 mmol/h pro Körperoberfläche)
R <sub>PDB</sub>	<i>Pee Dee Belemnite Standard</i> <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> / <sup>12</sup> CO <sub>2</sub> Ratio (R <sub>PDB</sub> = 0,011237)
Tab.	Tabelle
TE	Transiente Elastographie
URG	Untere Referenzgrenze
γGT	γ-Glutamyltransferase

## Abstrakt

**Einleitung:** Die häufigste Sekundärerkrankung bei Fontan-Patienten ist die Fontan-assoziierte Lebererkrankung (*Fontan-associated liver disease*, FALD). Sie betrifft bis zu 70-80 % der Patienten mit einer Fontan-Zirkulation. Die klinische Bedeutung der FALD ist nicht vollständig geklärt, der Zusammenhang zwischen der enzymatischen Leberfunktion und dem Schweregrad von FALD wurde bisher nicht untersucht. In dieser Studie haben wir den LiMAx®-Test (*maximum liver function capacity test*) bei erwachsenen Fontan-Patienten durchgeführt, um ihre maximale Leberfunktionskapazität zu bestimmen.

**Methodik:** Einundsechzig erwachsene Fontan-Patienten (medianes Alter: 29,3 Jahre [IQR 23,2; 36,2]) wurden in einer retrospektiven Querschnittstudie mit Hilfe des LiMAx®-Tests (Humedics GmbH, Berlin, Deutschland) untersucht. Der LiMAx®-Test basiert auf dem Metabolismus von <sup>13</sup>C-Methacetin, welches intravenös verabreicht und durch das hepatozytenspezifische Cytochrom P450 1A2 zu Paracetamol und <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> verstoffwechselt wird. <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> wird in der Ausatemluft gemessen und korreliert mit der maximalen Leberfunktionskapazität. Die Ergebnisse des LiMAx®-Tests wurden mit den Ergebnissen von routinemäßig im Rahmen der hepatologischen Nachsorge durchgeführten Untersuchungen, wie Leberultraschall, Laboruntersuchungen sowie der transienten Elastographie (TE), verglichen.

**Ergebnisse:** Die Untersuchung der maximalen Leberfunktionskapazität mittels LiMAx®-Test ergab eine normale Leberfunktion ( $\geq 315$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) bei 43 Patienten und eine eingeschränkte Leberfunktion (140-314  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) bei 18 Patienten. Bei keinem Patienten konnten schwere Leberschäden (0-139  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ) festgestellt werden. Die Laborwerte Bilirubin und  $\gamma\text{GT}$  waren bei Patienten mit einer eingeschränkten Leberfunktion signifikant höher im Vergleich zu Patienten mit normaler Leberfunktion ( $p = 0,006$  bzw.  $p = 0,03$ ). Eine Leberzirrhose wurde bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion signifikant häufiger diagnostiziert als bei Patienten mit einer normalen Leberfunktion ( $p = 0,021$ ). Die TE-Werte waren bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion signifikant höher als bei Patienten mit normaler Leberfunktion ( $p = 0,025$ ). Die maximale Leberfunktionskapazität unterschied sich nicht signifikant zwischen den verschiedenen Schweregraden von FALD ( $p = 0,544$ ).

**Zusammenfassung:** Die Ergebnisse dieser Studie konnten nachweisen, dass der LiMAx®-Test ein geeignetes diagnostisches Verfahren zur Beurteilung chronischer Leberschäden bei Fontan-Patienten ist. Unsere Studie hat gezeigt, dass die maximale Leberfunktionskapazität bei der Mehrheit der untersuchten Fontan-Patienten trotz nachgewiesener laborchemischer oder sonographischer Veränderungen erhalten war. Das deutet darauf hin, dass eine fortgeschrittene FALD nicht mit einer schweren Leberfunktionsstörung einhergeht.

## Abstract

**Objectives:** Fontan-associated liver disease (FALD) is the most frequent secondary organ dysfunction of Fontan palliated patients and affects up to 70-80 % of the Fontan population. The connection between morphologic characteristics of FALD and its impact on hepatic function as well as the clinical importance of FALD are still not completely understood. In this study, we performed the liver maximum function capacity test (LiMAx®) on adult Fontan patients in an attempt to evaluate their maximum liver function capacity.

**Methods:** A retrospective cross-sectional observational study was conducted, involving the analysis of sixty-one adult Fontan patients (median age: 29.3 years [IQR 23.2; 36.2]), in whom the LiMAx® test (Humedics GmbH, Berlin, Germany) was performed. The LiMAx® test is based on the hepatocyte-specific cytochrome P450 1A2 metabolism of <sup>13</sup>C-methacetin, which is injected intravenously and metabolized into paracetamol and <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>. <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> is measured in exhaled air and correlates with the maximum function capacity of the liver. Results of the LiMAx® test were compared with other diagnostic modalities to assess hepatic function, such as hepatic ultrasound, laboratory testing and transient elastography (TE).

**Results:** The assessment of maximal liver function capacity through the LiMAx® test revealed normal values ( $\geq 315$   $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ ) in 43 patients and a moderate impairment (140-314  $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ ) in 18 patients; none of the patients demonstrated severe hepatic impairment ( $< 139$   $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ ). Laboratory parameters, such as bilirubin and  $\gamma\text{GT}$ , were significantly higher in patients with moderately impaired liver function compared to those with normal liver function ( $p = 0.006$  and  $p = 0.03$ , respectively). Liver cirrhosis was diagnosed significantly more frequently in patients with moderately impaired liver function than in those with normal liver function ( $p = 0.021$ ). TE values were significantly higher in patients with moderately impaired liver function compared to those with normal liver function ( $p = 0.025$ ). There was no correlation between the results of the LiMAx® test and the severity of FALD ( $p = 0.544$ ).

**Conclusion:** The LiMAx® test is a useful diagnostic tool to evaluate chronic hepatic injury in Fontan patients. Despite changes in laboratory parameters and sonographic abnormalities, maximal liver function capacity was preserved in the majority of our adult

Fontan patients. This suggests that advanced FALD is not associated with a severe deterioration of enzymatic function.



# 1. Einleitung

## 1.1. Funktionell univentrikuläre Zirkulation

Angeborene Herzfehler reichen in ihrem Spektrum von einfachen bis zu äußerst komplexen Anomalien (1), welche bei etwa 1 % der Neugeborenen diagnostiziert werden (2). Genetische Faktoren und externe Noxen können Ursache sein, die Mehrheit tritt jedoch sporadisch auf (2, 3). Univentrikuläre Herzfehler machen etwa 3 % aller angeborenen Herzfehler aus (2). Jungen sind in der Regel häufiger betroffen als Mädchen (4).

Zu den univentrikulären Fehlbildungen gehören unter anderem die Trikuspidalatresie, der doppelte Einlass des linken Ventrikels (*Double Inlet Left Ventricle*, DILV) oder der unbalancierte atrioventrikuläre Septumdefekt. Diese Herzfehler haben eines gemeinsam: Es liegt nur eine ausreichend funktionsfähige Herzkammer vor. Während eine Herzkammer normal entwickelt und funktionsfähig ist, findet sich meist eine zweite, rudimentär angelegte Herzkammer. Wenn das Blut durch einen gemeinsamen bzw. einzelnen dominanten Ventrikel fließt, vermischen sich das venöse und das arterielle Blut. Dadurch kommt es zu einer zentralen Zyanose. Das palliative Therapieprinzip für Patienten mit einer univentrikulären Herzkammer ist eine chirurgische Trennung des Lungen- und Körperkreislaufes. Dies kann in mehreren Schritten durch die Verbindung der oberen und der unteren Hohlvene mit der Pulmonalarterie erreicht werden. Das Blut wird somit passiv, das bedeutet unter Umgehung einer Herzkammer, in die Lunge geleitet. Diese Therapieform der univentrikulären Zirkulation wird als „definitive Palliation“ bezeichnet (5).

Die Operation, mit welcher eine definitive Trennung der Kreisläufe erzielt wird, wird Fontan-Operation genannt. Der daraus resultierende Kreislauf mit nur einer Herzkammer wird als Fontan-Zirkulation bezeichnet (6). Um die Voraussetzungen für die erfolgreiche Fontan-Operation zu schaffen, sind bei circa 80 % der Kinder eine oder mehrere Voroperationen sowie interventionelle Eingriffe erforderlich (4). Ohne univentrikuläre Palliation beträgt die Sterblichkeit in den ersten Lebensmonaten 80 %. Eine kurative Therapie ist die Herztransplantation (2).

## 1.2. Fontan-Operation und ihre Modifikationen

Die erste erfolgreiche definitive Palliation wurde von Fontan und Baudet im Jahre 1968 durchgeführt und 1971 publiziert (7). Diese ursprünglich einschrittige Operationstechnik,

welche eine atriopulmonale Anastomose (*atriopulmonary connection*, APC) oder eine atrioventrikuläre Anastomose (*atrioventricular connection*, AVC) umfasst (8), hat sich weiterentwickelt und wird heute in der Regel in zwei bis drei chirurgischen Schritten durchgeführt:

- Aortopulmonaler Shunt

Bei manchen Kindern muss zuerst die Verbesserung der Lungen- oder Körperperfusion durch die Anlage eines aortopulmonalen Shunts von der Aorta oder dem *Truncus brachiocephalicus* zur Pulmonalarterie sichergestellt werden (6).

- Bidirektionale obere kavopulmonale Anastomose (Glenn-Anastomose) und Hemi-Fontan-Operation

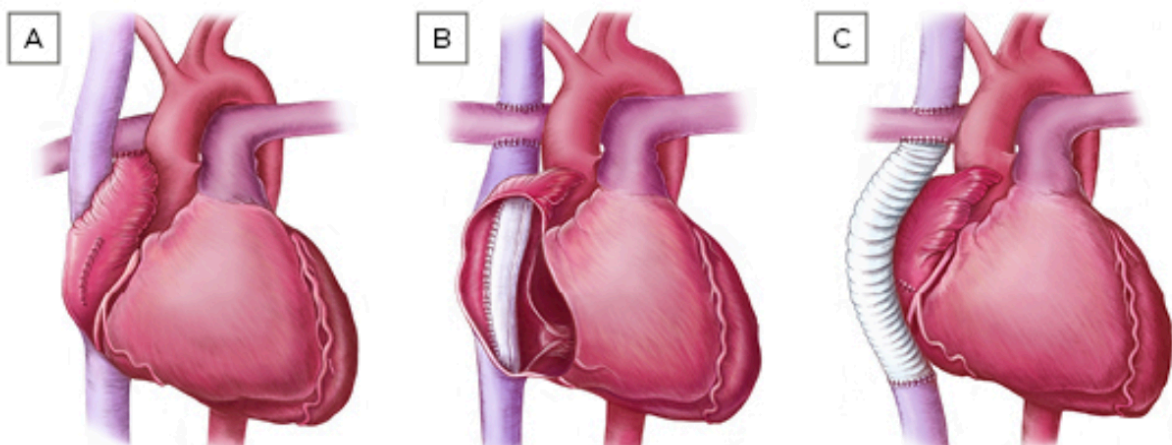
Als weiterer Schritt einer definitiven Palliation wird eine Glenn-Operation bzw. Hemi-Fontan-Operation vorgenommen. Die obere Hohlvene wird abgesetzt und mit der rechten Pulmonalarterie anastomosiert. Der Pulmonalarterienstamm und die Einmündung der oberen Hohlvene in den rechten Vorhof werden unterbunden. Das Blut aus der oberen Körperhälfte wird passiv in beide Lungenarterien geleitet. Das Blut aus der unteren Hohlvene fließt weiter durch das Herz, es liegt also weiterhin eine zentrale Zyanose vor. Die Physiologie nach einer Hemi-Fontan-Operation entspricht der nach einer bidirektionalen oberen kavopulmonalen Anastomose, der Unterschied liegt in technischen Details. Bei der Hemi-Fontan-Operation wird eine Verbindung der rechten Pulmonalarterie mit der oberen Hohlvene und dem oberen Teil des rechten Vorhofs hergestellt und das Ostium der oberen Hohlvene mit einem Flecken verschlossen. Der Eingriff wird meist im 3.-6. Lebensmonat durchgeführt (5, 6).

- Totale kavopulmonale Anastomose

Als letzter Schritt der definitiven Palliation wird die untere Hohlvene mit der rechten und linken Pulmonalarterie anastomosiert. Diese Konnektion erfolgt über ein extrakardiales Konduit oder über einen intraatrialen Tunnel (siehe Abb. 1). Das gesamte venöse Blut fließt jetzt passiv durch die Lunge (totale kavopulmonale Anastomose). Dieser Operationsschritt wird in der Regel im 2.-3. Lebensjahr durchgeführt. Die Kreislaufumstellung ist groß, früh postoperativ kann schon ein geringer Anstieg des pulmonal-arteriellen Widerstandes dazu führen, dass der passive Blutstrom aus den Körpervenien diesen erhöhten Widerstand nicht mehr überwinden

kann. In solchen Situationen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, eine Fenestration im Fontan-Tunnel anzulegen. Hierbei handelt es sich um eine 3-5 mm große Kommunikation zwischen dem Fontan-Tunnel und dem rechten Vorhof, welche bei einem Anstieg des pulmonal-arteriellen Widerstandes wie ein Überlaufventil fungiert. Sofern die Fenestration sich im Laufe der Zeit nicht spontan verschließt, kann sie nach 1-2 Jahren interventionell verschlossen werden (5, 6).

Die Fontan-Operation ermöglicht Überlebensraten von circa 80 % nach 20 Jahren und sollte angesichts der Schwere der zugrunde liegenden Herzfehler als großer Erfolg angesehen werden (9, 10). Dennoch kommt es bei manchen Patienten nach einer Fontan-Operation zu einem Versagen des Fontan-Kreislaufs, welches mit Symptomen einer schweren Herzinsuffizienz einhergeht und die Überlebensprognose der Patienten limitiert (11).



**Abbildung 1: Modifikationen der Fontan-Operation.**

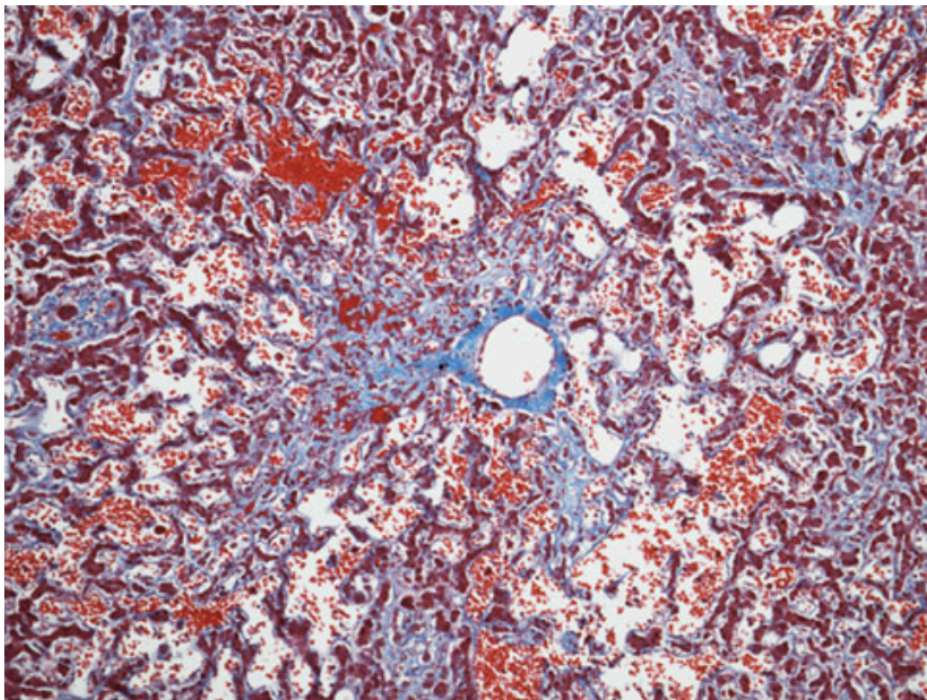
A) Atriopulmonale Anastomose B) Totale kavopulmonale Anastomose mit intraatrialem Tunnel C) Totale kavopulmonale Anastomose mit extrakardialen Konduit. Aus (12).

Veröffentlicht von Sathananthan *et al.* unter Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

### 1.3. Fontan-assoziierte Lebererkrankung (*Fontan-associated liver disease, FALD*)

Je mehr Fontan-Patienten das Erwachsenenalter erreichen, desto deutlicher werden die Langzeitfolgen der unphysiologischen Fontan-Zirkulation. Die Langzeitkomplikationen betreffen verschiedene Organe, u.a. das Herz, die Lunge, die Nieren, das Gehirn, die

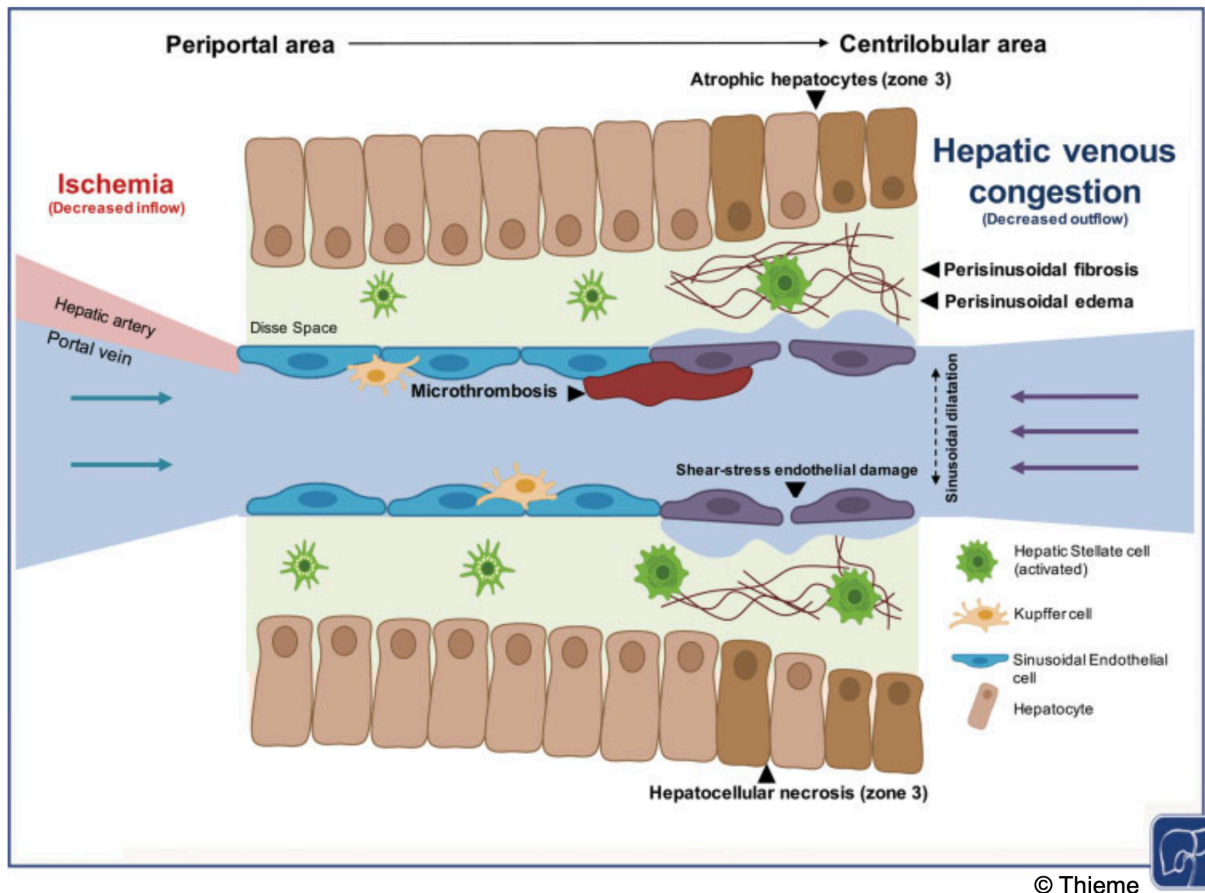
Intestinalorgane und die Leber (13). Die Fontan-assoziierte Lebererkrankung (*Fontan-associated liver disease*, FALD) ist allerdings die häufigste Sekundärerkrankung bei Fontan-Patienten (14-16). FALD umfasst ein breites Spektrum an strukturellen und funktionellen Leberveränderungen wie Leberfibrose, Leberzirrhose und dem hepatozellulären Karzinom. Der genaue pathophysiologische Mechanismus der FALD ist unklar. Durch die passive Umleitung des venösen Blutes in das Lungengefäßbett unter Umgehung einer Herzkammer kommt es im Langzeitverlauf zu einer chronischen Erhöhung des zentral-venösen Drucks und einem verminderten Herzzeitvolumen. Der Druck in den Lebervenen steigt und es entsteht eine chronische hepatische Kongestion, welche in einer Dilatation der Lebersinusoide resultiert (siehe Abb. 2). Dabei kommt es zur Schädigung der sinusoidalen Endothelzellen mit Produktion von Mediatoren, welche die hepatischen Sternzellen und somit auch die Kollagensynthese aktivieren (siehe Abb. 3). Außerdem verhindert die chronische hepatische Kongestion eine suffiziente venöse Drainage der Leber mit konsekutiver Ischämie, Hypoxie, perisinusoidalem Ödem und Fibrose sowie Atrophie und Nekrose der Hepatozyten (13).



**Abbildung 2: Histopathologie der Leber eines Fontan-Patienten.**

Es zeigt sich eine ausgeprägte sinusoidale Dilatation und Stauung. Fibrosebänder erstrecken sich von der Zentralvene entlang der Sinusoide. (Masson-Trichrom-Färbung; Vergrößerung x100). Aus (17).

Veröffentlicht von Rychik *et al.* unter Attribution 2.0 Generic (CC BY 2.0) <https://creativecommons.org/licenses/by/2.0>.



**Abbildung 3: Pathophysiologie der FALD.**

Die chronische hepatische Kongestion bedingt eine Dilatation der Sinusoide, was zu einer Schädigung der sinusoidalen Endothelzellen führt und die Kollagensynthese aktiviert. Dies begünstigt die Entstehung eines perisinusoidalen Ödems und Fibrose, was letztlich zur Atrophie und Nekrose der Hepatozyten führt. Aus (13). Mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG.

Es wird außerdem diskutiert, dass ein prothrombotischer Zustand aufgrund von bestimmten Veränderungen der Zusammensetzung der Blutgerinnungsfaktoren (niedrige Serumspiegel von Antithrombin III, Thrombomodulin, Alpha-2-Antiplasmin und den Proteinen C und S sowie hohe Serumspiegel des Thrombin-Antithrombin-Komplexes) intrahepatische (Mikro-)Thrombosen begünstigt. Zusätzlich können eine erhöhte hepatische Lymphangiogenese einerseits und eine lymphatische Kongestion andererseits die Ablagerung von Kollagenfasern fördern. Es wird zudem spekuliert, dass Fontan-Patienten eine systemischen Mikroinflammation entwickeln, welche zur Endorganfibrogenese beiträgt (18, 19). Diese Veränderungen gehen mit einer irreversiblen Einschränkung der Leberfunktion einher und limitieren die Überlebensprognose der Patienten (13).



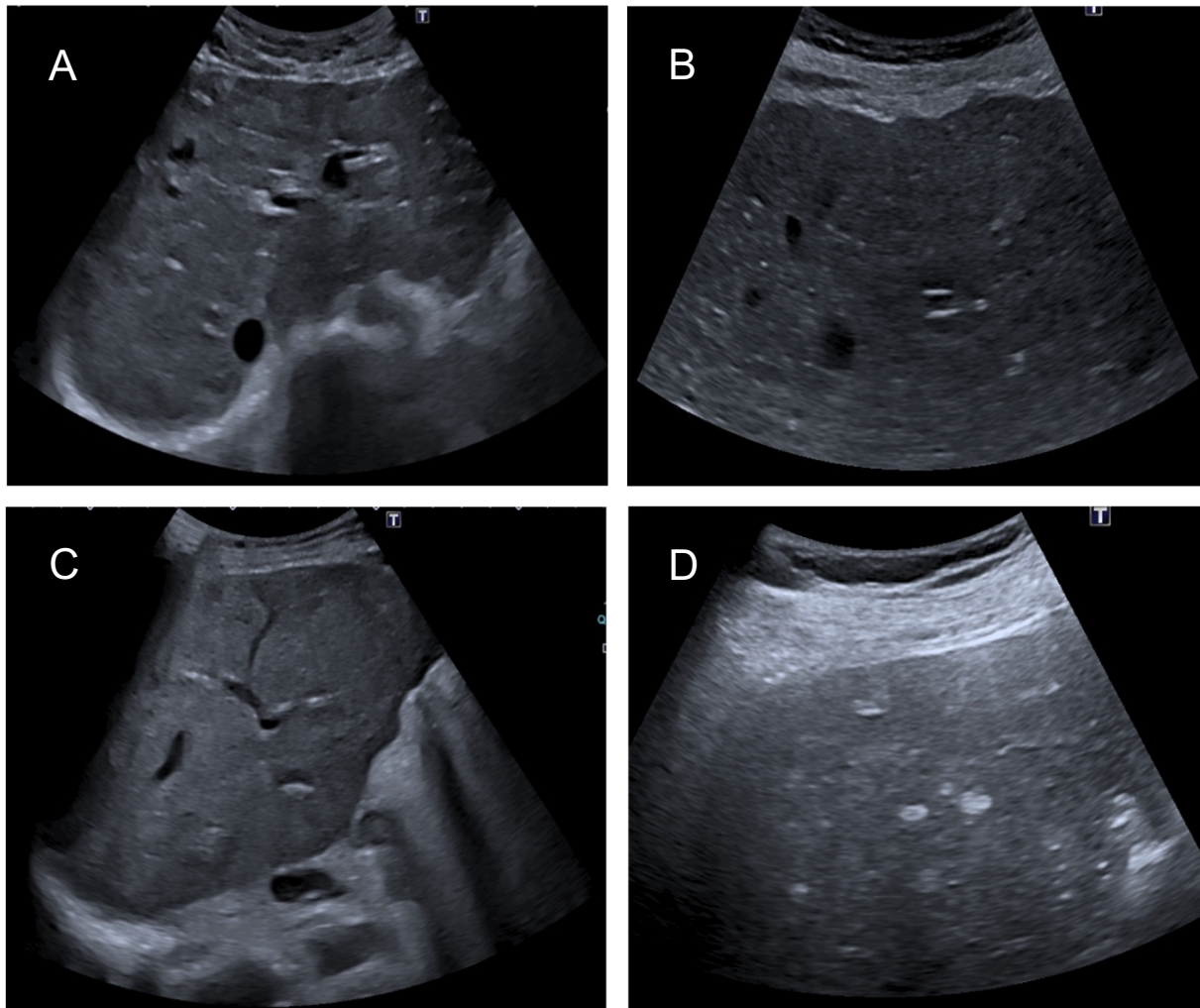
Die FALD beginnt bei Fontan-Patienten wahrscheinlich schon vor der Operation und der Verlauf der Erkrankung ist sehr heterogen (13, 20, 21). Das Ausmaß dieser Schädigung hängt hauptsächlich vom Fortschreiten der Herzinsuffizienz, vorliegenden Stenosen im Fontan-Kreislauf oder akuten kardiopulmonalen Ereignissen wie Herzrhythmusstörungen ab (13). Der Hauptrisikofaktor für eine FALD ist jedoch die vergangene Zeit nach der Operation (14, 15, 22, 23). Klinisch verläuft die beginnende FALD häufig asymptomatisch und kann durch invasive und nicht-invasive Leberuntersuchungen diagnostiziert werden. Einige Patienten berichten über unspezifische Schmerzen im rechten oberen Quadranten des Bauches. In der körperlichen Untersuchung kann eventuell ein hepatojugulärer Reflux oder ein leichter Ikterus festgestellt werden (18). Schließlich können Anzeichen von portaler Hypertonie, wie gastroösophageale Varizen, Varizenblutung und Aszites, in den späteren Stadien von FALD auftreten (19). Zusätzlich ist die hepatische Enzephalopathie erwähnenswert. Sie ist eine sehr seltene Komplikation der FALD, denn selbst Patienten mit schweren Leberschäden weisen häufig eine erhaltene Leberfunktion auf (17, 24). Die tatsächliche Inzidenz und Prävalenz könnten jedoch durch die retrospektive Natur der meisten Studien und das häufige Auftreten anderer neurologischer Komplikationen in der Fontan-Population (z. B. hypoxische Enzephalopathie, kardioembolischer Schlaganfall und kognitive Beeinträchtigung) unterschätzt werden (18, 25). Bisher existieren viele Studien zur Früherkennung und weiterführenden Diagnostik von FALD (14, 15, 17, 26, 27), eine systematische Klassifizierung des Schweregrads wurde jedoch bisher nicht durchgeführt. Hierzu hat unsere Arbeitsgruppe basierend auf den Ergebnissen von Laboruntersuchungen, Leberultraschall und transienter Elastographie (TE) einen FALD-Score entwickelt, welcher eine Einteilung in drei Schweregrade (fehlende/milde, moderate und schwere FALD) ermöglicht (28).

## **1.4. Leberuntersuchungen bei Fontan-Patienten**

### **1.4.1. Leberultraschall**

Ultraschall wird seit vielen Jahren für die Untersuchung von Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen eingesetzt und zeichnet sich durch eine einfache Durchführbarkeit sowie breite Verfügbarkeit aus (29). Sonographie ist das am häufigsten verwendete bildgebende Verfahren zur Diagnose einer Leberzirrhose (30). Hepato- und Splenomegalie, Leberdysmorphie (atropher rechter Leberlappen/hypertropher linker

Leberlappen), heterogenes Leberparenchym, Oberflächennodularität, abnorme Lebervenenarchitektur, hyperechogene Läsionen, Dilatation der Lebervenen und Aszites sind mögliche hepatische Veränderungen, die bei Fontan-Patienten sonographisch detektierbar sind (23). Abbildung 4 zeigt typische Ultraschallbefunde unserer Fontan-Patienten.



**Abbildung 4: Sonographiefunde bei Fontan-Patienten.**

(A) Heterogenes Leberparenchym. (B) Oberflächennodularität. (C) Lebervenenkaliberschwankung. (D) Hyperechogene Läsionen.

#### 1.4.2. Transiente Elastographie

Die transiente Elastographie (TE, FibroScan®; Echosens, Paris, Frankreich) ist ein nicht-invasives Untersuchungsverfahren zur Bestimmung der Lebersteifigkeit. Der spezielle Schallkopf wird in Leberhöhe in einem Zwischenrippenraum aufgesetzt (siehe Abb. 5) und sendet einen mechanischen Impuls (niederfrequente Welle) aus. In Abhängigkeit von der Elastizität des Gewebes breiten sich die Wellen mit unterschiedlicher

Geschwindigkeit durch die Leber aus. Je stärker die Leber durch das Bindegewebe umgebaut ist, desto schneller ist die Ausbreitung der Wellen. Anhand dieser Information kann die Lebersteifigkeit berechnet werden, welche in Kilopascal (kPa) angegeben wird. Die Untersuchung sollte nach mindestens 2-stündiger Nahrungskarenz durchgeführt werden und dauert fünf bis zehn Minuten. Bei adipösen Patienten oder Patienten mit Aszites ist der Test nicht aussagekräftig (31-33).



**Abbildung 5: Transiente Elastographie (FibroScan®).**

Patient liegt flach auf der Untersuchungs- liege, rechter Arm hinter dem Kopf, Beine überkreuzt. Aus (34). Mit freundlicher Genehmigung von Echosens SA.

**1.4.3. LiMAx®-Test**

Der LiMAx®-Test (*maximum liver function capacity test*) ist ein etabliertes Testverfahren zur Bestimmung der enzymatischen Leberfunktion. Seit 2003 wurde er durch die Arbeitsgruppe „workgroup for the liver“ unter Leitung von Prof. Dr. med. Martin Stockmann an der Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Thoraxchirurgie der Charité-Universitätsmedizin Berlin entwickelt. Seit Januar 2008 wird der Test als Standarduntersuchung routinemäßig in der Leberchirurgie angewendet (35).



Der Test ist eine nicht-invasive Untersuchungsmethode, die am Patientenbett in Form eines Atemtests durchgeführt werden kann. Er beruht auf der enzymatischen Verstoffwechslung von intravenös verabreichtem  $^{13}\text{C}$ -Methacetin durch das leberspezifische Cytochrom P450 1A2 System (CYP1A2). Dabei entstehen Paracetamol und  $^{13}\text{CO}_2$ , welches über die Lunge abgeatmet wird und in der Ausatemluft quantifiziert wird. CYP1A2 kommt ausschließlich in den Hepatozyten im funktionalen Lebergewebe vor und ist gleichmäßig über alle Zellen eines Leberazinus verteilt. Seine Aktivität hängt von dem Ausmaß der Leberschädigung ab (36). Die  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Substanz ist gut verträglich und bisher gibt es keine Hinweise auf Nebenwirkungen (36, 37). Außerdem hat sich gezeigt, dass Alter, Geschlecht, Adipositas und Medikamente die LiMAx®-Ergebnisse nicht beeinflussen (37). Daher ist  $^{13}\text{C}$ -Methacetin zur Bestimmung der maximalen Aktivität von CYP1A2 gut geeignet. Der hiermit ermittelte Umsatz von  $^{13}\text{C}$ -Methacetin bietet eine zuverlässige Information über die quantitative Leberfunktion und dient zur Bestimmung der klinischen Leberfunktionskapazität in Echtzeit (36, 37). Bisher wurde der LiMAx®-Test noch nie bei Fontan-Patienten durchgeführt.

### **1.5. Fragestellungen und Zielsetzung der Arbeit**

Die veränderte Hämodynamik führt zu Folgeschäden im Bereich vieler Organe, insbesondere der Leber (5, 13).

In dieser Arbeit wurden deshalb die folgenden Fragestellungen untersucht:

- Ist die mittels LiMAx®-Test erfasste enzymatische Leberfunktion bei Fontan-Patienten reduziert?
- Wie korreliert die enzymatische Leberfunktion mit anderen hepatischen Untersuchungsmethoden (Laborwerte, Leberultraschall, TE)?
- Wie korreliert die enzymatische Leberfunktion mit den Schweregraden von FALD?

Das Primärziel dieser Promotionsarbeit ist die Erfassung der enzymatischen Leberfunktion durch Durchführung des LiMAx®-Tests. Sekundärziele sind die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der enzymatischen Leberfunktion und den Ergebnissen anderer hepatischer Untersuchungsmethoden sowie den Schweregraden von FALD.

## 2. Methodik

### 2.1. Studiendesign und Patientenkollektiv

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine retrospektive klinische Querschnittstudie, welche durch die Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin (EA2/127/18) genehmigt wurde. Die Daten wurden zwischen 2017 und 2022 gemäß der Deklaration von Helsinki und der Richtlinien zur „Guten Wissenschaftlichen Praxis“ der Charité-Universitätsmedizin Berlin erhoben. Hierfür wurden 61 Fontan-Patienten, die über 18 Jahre alt sind und im Deutschen Herzzentrum der Charité behandelt wurden, untersucht. Bei 4/61 Patienten wurde der LiMAx®-Test vor Studienbeginn aus klinischer Indikation im Rahmen der Evaluation für eine Herztransplantation durchgeführt. Fontan-Patienten, welche nicht volljährig waren, eine bekannte Unverträglichkeit/ allergische Reaktion auf Paracetamol/<sup>13</sup>C-Methacetin hatten oder der Untersuchung nicht zugestimmt haben, wurden ausgeschlossen. Abbildung 6 zeigt den Einschlussprozess.

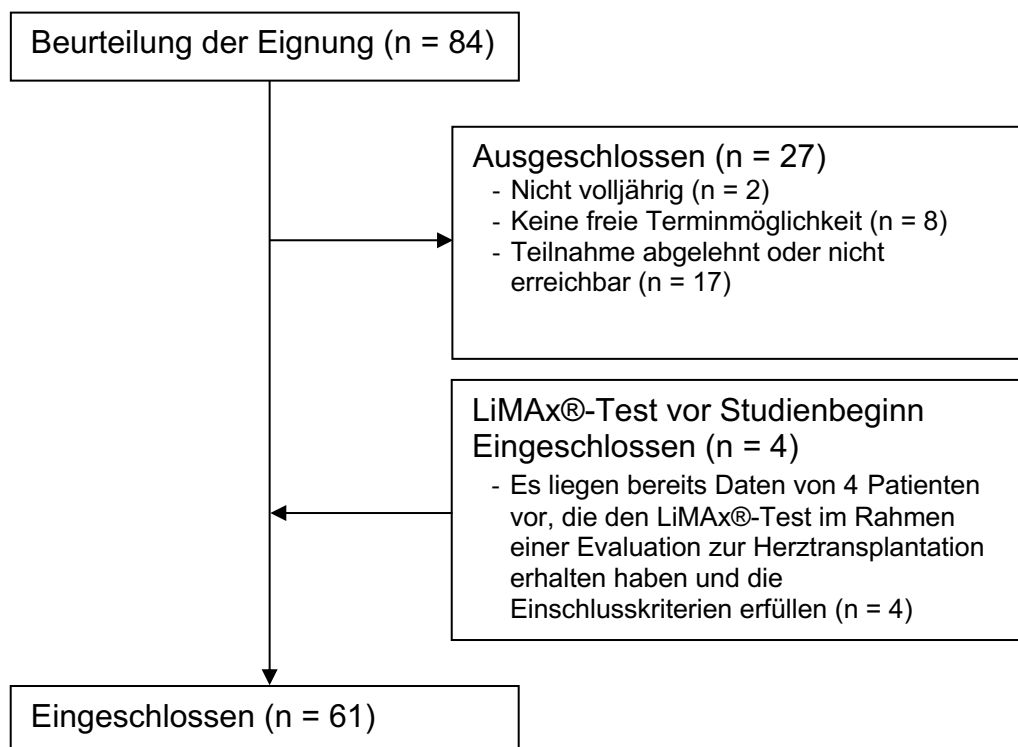


Abbildung 6: CONSORT-Flussdiagramm zum Einschlussprozess der Patienten.

### 2.2. Hepatisches Nachsorgeprogramm

Der LiMAx®-Test wurde im Rahmen des hepatischen Nachsorgeprogrammes für Patienten nach einer Fontan-Operation während eines geplanten stationären

Aufenthaltes (zum Beispiel für eine Herzkatheteruntersuchung) oder einer geplanten ambulanten Vorstellung durchgeführt. Als praktischer Teil dieser Promotionsarbeit wurde der LiMAx®-Test selbstständig von mir durchgeführt. Die Laboruntersuchung sowie die Leberultraschalluntersuchung und TE sind innerhalb von maximal 6 Monaten vor oder nach der LiMAx®-Untersuchung erfolgt. Die Laborparameter wurden anhand von alters- und geschlechtsspezifischen klinikinternen Referenzwerten kategorisiert. Sonographie und TE wurden entsprechend dem Standardprotokoll durch die medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hepatologie und Gastroenterologie der Charité durchgeführt. Der TE-Wert wurde aus 10 Messungen des rechten Leberlappens als Mittelwert berechnet. Die Ergebnisse aller Untersuchungen wurden in die elektronischen Patientenakten des Deutschen Herzzentrum der Charité eingetragen.

### **2.3. Einteilung der FALD in Schweregrade**

Anhand eines FALD-Scores, welcher auf den Ergebnissen von Laboruntersuchungen, TE und Leberultraschalluntersuchung basiert, wurde FALD in drei Schweregrade klassifiziert (28). Die Laborparameter werden wie folgend kategorisiert: 1 Punkt wird für eine Abweichung der Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST),  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ GT) oder des Gesamtbilirubins über die obere Referenzgrenze vergeben. Ebenso erhalten die Patienten 1 Punkt für eine unterhalb der Referenzwerte erniedrigte Thrombozytenzahl. Anhand des Medians und den Perzentilen der Werte der Gesamtkohorte werden die Messwerte der TE wie folgend eingeordnet: Patienten mit TE-Werten  $\leq 21,2$  kPa erhalten 0 Punkte, Patienten mit TE-Werten von 21,3 bis 27,6 kPa 1 Punkt, Patienten mit TE-Werten von 27,7 bis 35,7 kPa 2 Punkte und Patienten mit TE-Werten  $\geq 35,8$  kPa 3 Punkte. In der Leberultraschalluntersuchung werden die häufigsten bei Fontan-Patienten festgestellten hepatischen Veränderungen untersucht und für jede beobachtete Leberveränderung wird 1 Punkt vergeben, so dass in dieser Kategorie maximal 9 Punkte erreicht werden können (28). Die Punkte aller 3 diagnostischen Verfahren werden zum endgültigen FALD-Score addiert und dienen zur Klassifizierung des Schweregrads der FALD. Die Aufteilung in Schweregrade erfolgte ebenfalls Anhand des Medians und der Perzentilen. Bei 0-3 Punkten wird FALD als fehlend/mild klassifiziert, bei 4-5 Punkten als moderat und  $\geq 6$  Punkten als schwer (28). In Tabelle 1 ist der FALD-Score und in Tabelle 2 sind die Schweregrade der FALD zusammengefasst. Der FALD-Score wurde für alle in die Studie eingeschlossenen Patienten aus den gesammelten Ergebnissen der Leberuntersuchungen berechnet.

**Tabelle 1: FALD-Score.**

	<b>Punkte</b>
<b>Laboruntersuchung</b>	
ALT > ORG	1
AST > ORG	1
γGT > ORG	1
Gesamtbilirubin > ORG	1
Thrombozytenzahl < URG	1
<b>TE (kPa)</b>	
≤21.2	0
21.3 - 27.6	1
27.7 - 35.7	2
≥35.8	3
<b>Sonographiebefunde</b>	
Hepatomegalie	1
Splenomegalie	1
Heterogenes Leberparenchym	1
Leberdysmorphie (ARL/HLL)	1
Dilatation der Lebervenen	1
Abnorme Lebervenenarchitektur	1
Hyperechogene Läsionen	1
Oberflächennodularität	1
Aszites	1

ALT (Alanin-Aminotransferase), ARL/HLL (atropher rechter Leberlappen/hypertropher linker Leberlappen), AST (Aspartat-Aminotransferase), ORG (obere Referenzgrenze), TE (transiente Elastographie), URG (untere Referenzgrenze), γGT (γ-Glutamyltransferase).  
Tabelle in Anlehnung an Schleiger *et al.* (28).

**Tabelle 2: Einteilung der Schweregrade von FALD.**

FALD-Score ≤3	Fehlende/milde FALD
FALD-Score 4 - 5	Moderate FALD
FALD-Score ≥6	Schwere FALD

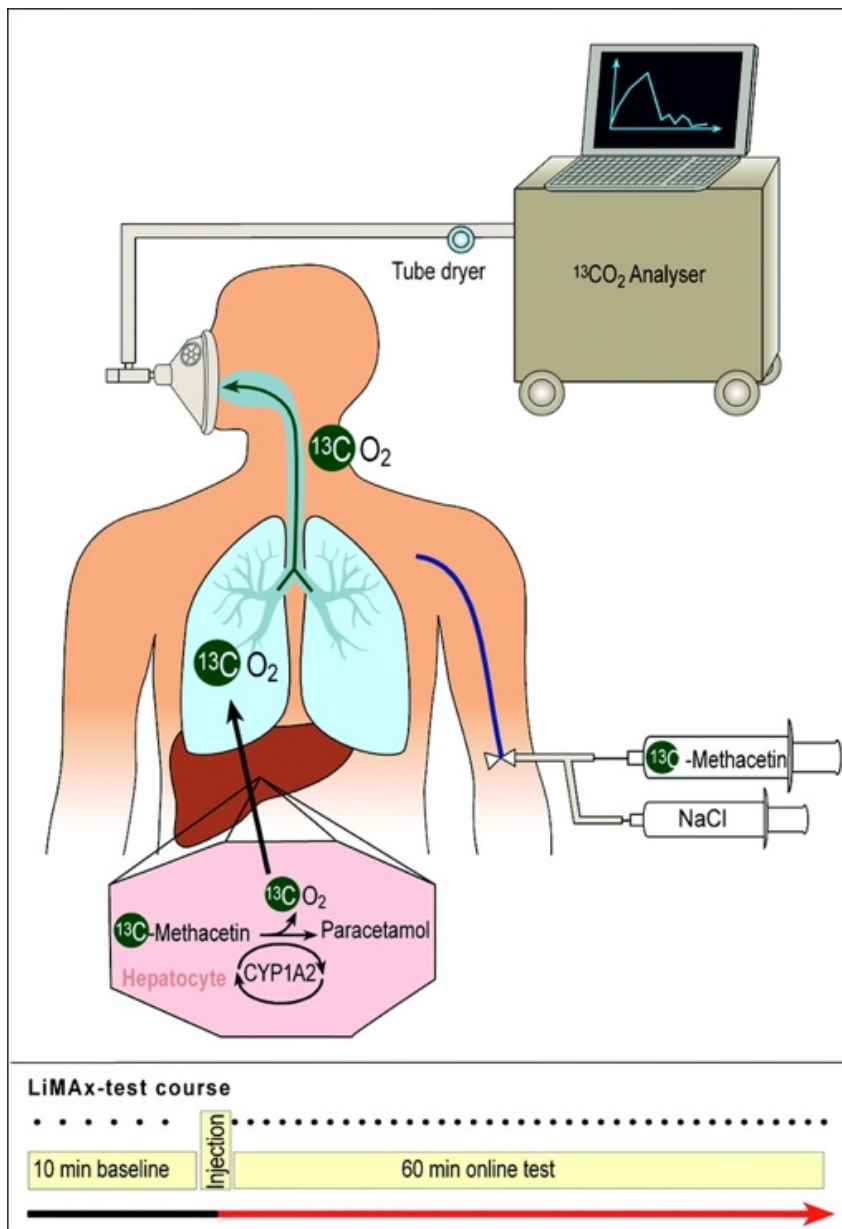
## 2.4. Untersuchung der enzymatischen Leberfunktion mittels LiMAx®-Test

Zur Erfassung der Leberenzymfunktion habe ich die LiMAx®-Untersuchung bei Patienten nach mindestens 3-stündiger Nahrungskarenz durchgeführt. Eine Atemmaske, die mit dem Analysegerät verbunden war, musste während des Tests getragen werden. Dies ermöglichte eine Echtzeitanalyse der ausgeatmeten Luft. Zuerst habe ich die *Delta Over Baseline* (DOB) bestimmt, bei der es sich um das individuelle Verhältnis von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft handelt. Danach verabreichte ich innerhalb von 20 Sekunden die  $^{13}\text{C}$ -Methacetin-Lösung als Bolus intravenös, gefolgt von 20 ml einer 0,9 % Natriumchlorid-Lösung. Die Dosierung betrug 2 mg/kg Körpergewicht. In der Leber erfolgte die Verstoffwechslung der Methacetin-Substanz durch das Cytochrom P450 1A2 zu Paracetamol und  $^{13}\text{CO}_2$ . Das Verhältnis von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  in der Ausatemluft wurde über einen Zeitraum von 60 Minuten kontinuierlich gemessen und als Kurve aufgezeichnet. Als Letztes wurde der LiMAx®-Wert anhand der LiMAx®-Formel durch das Analysegerät berechnet (siehe Abb. 7). Der LiMAx®-Wert ist ein Maß für die maximale Leberfunktionskapazität und der Normwert wird mit  $\geq 315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  angegeben (36, 37). Die Abbildung 8 zeigt die schematische Darstellung des LiMAx®-Tests und die Abbildung 9 die Interpretation des LiMAx®-Wertes.

$$\text{LiMAx}^{\circledR} = \frac{\text{DOB}_{\text{max}} \cdot R_{\text{PDB}} \cdot P \cdot M}{\text{KG}}$$

### Abbildung 7: Formel zur Berechnung des LiMAx®-Wertes.

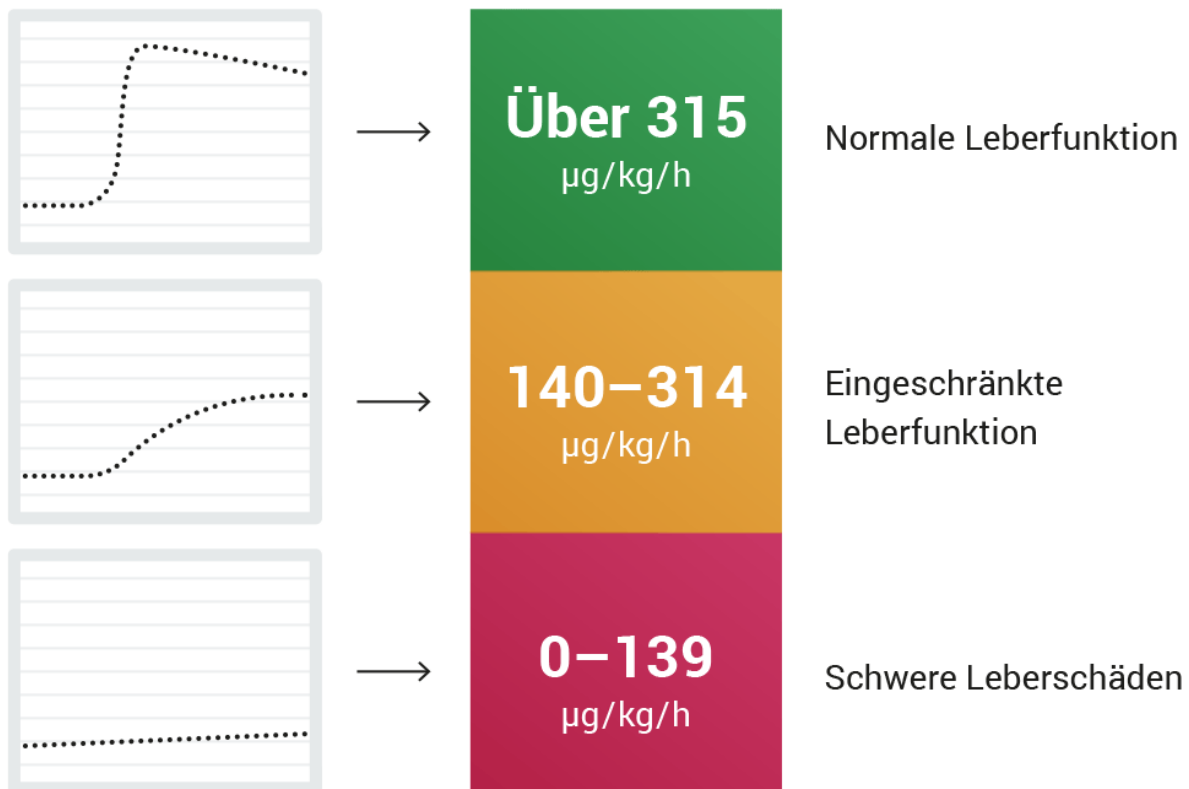
Der Wert wird in  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  angegeben.  $\text{DOB}_{\text{max}}$  ist die maximale *Delta Over Baseline*,  $R_{\text{PDB}}$  ist die *Pee Dee Belemnite Standard*  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$  Ratio ( $R_{\text{PDB}} = 0,011237$ ),  $P$  ist die geschätzte  $\text{CO}_2$ -Produktionsrate (300 mmol/h pro Körperoberfläche),  $M$  ist die molare Masse des  $^{13}\text{C}$ -Methacetin und  $\text{KG}$  das Körpergewicht des Patienten. Aus (36).



**Abbildung 8: Schematische Darstellung des LiMax®-Tests.**  
 Aus (36). Mit freundlicher Genehmigung von Wolters Kluwer.

LiMAx-Messkurven

LiMAX-Wert



**Abbildung 9: Interpretation des LiMAx®-Wertes.**

Die Testergebnisse ermöglichen die Stratifikation von Patienten in eine von drei Kategorien der Leberschädigung. Aus (38). Mit freundlicher Genehmigung von Humedics GmbH.

## 2.5. Statistische Analyse

Die Patientendaten wurden den elektronischen Patientenakten des Deutschen Herzzentrum der Charité entnommen. Die Patientenmerkmale wurden als Median, Interquartilsabstand (*interquartile range*, IQR) und Häufigkeit angegeben. Das Patientenalter wurde als der Zeitraum zwischen der Geburt und der LiMAx®-Untersuchung festgelegt. Die Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation wurde als der Zeitraum zwischen der Fontan-Operation und der LiMAx®-Untersuchung definiert. Die Korrelation zwischen der maximalen Leberfunktionskapazität und der Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation wurde anhand der Spearman's Korrelation ermittelt. Der Vergleich zwischen dem Ausmaß der Einschränkung der enzymatischen Leberfunktion und den Laborwerten, TE sowie der Anzahl der in der Leberonographie diagnostizierten Leberveränderungen wurde mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests statistisch ausgewertet. Mittels Fisher-Yates-Tests wurde untersucht,

ob die im Ultraschall diagnostizierten einzelnen morphologischen Leberveränderungen mit dem Grad der Einschränkung der enzymatischen Leberfunktion zusammenhängen. Der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der FALD und der maximalen Leberfunktionskapazität wurde mit dem Kruskal-Wallis-Test ermittelt. Die statistischen Analysen wurden mit der Statistiksoftware SPSS (Version 29, IBM Corp., NY, USA) durchgeführt. Ein p-Wert  $< 0,05$  wurde als statistisch signifikant gewertet.



### **3. Ergebnisse**

#### **3.1. Patientenmerkmale**

Die Patientenmerkmale der gesamten Kohorte sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Das mediane Alter der Patienten betrug 29,3 Jahre [IQR 23,2; 36,2] und die mediane Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation 23,1 Jahre [IQR 17,5; 26,5]. Die häufigsten zugrundeliegenden kardialen Fehlbildungen waren Trikuspidalatresie (n = 20), DILV (n = 15) und unbalancierter atrioventrikulärer Septumdefekt (n = 9). Zu den Fontan-Modifikationen gehörten ein extrakardiales Konduit bei 22 Patienten, ein lateraler Tunnel bei 19 Patienten und eine atriopulmonale/ atrioventrikuläre Verbindung (APC/AVC) oder andere Modifikationen bei 20 Patienten. Anhand des FALD-Scores wurde FALD bei 14 Patienten als fehlend/mild, bei 19 Patienten als moderat und bei 27 Patienten als schwer eingestuft.

**Tabelle 3: Patientenmerkmale.**

	<b>Median [IQR] / Häufigkeit (%)</b>
<b>Merkmale</b>	
Alter bei LiMax®-Test (Jahre)	29,3 [23,2; 36,2]
Alter bei Fontan-Operation (Jahre)	5,1 [3,3; 12,3]
Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation (Jahre)	23,1 [17,5; 26,5]
<b>Kardiale Morphologie</b>	
Trikuspidalatresie	20/61 (32,8%)
<i>Double inlet left ventricle</i>	15/61 (24,6%)
Unbalancierter atrioventrikulärer Septumdefekt	9/61 (14,8%)
Transposition der großen Gefäße	3/61 (4,9%)
Hypoplastisches Linksherzsyndrom	2/61 (3,2%)
Sonstiges	12/61 (19,7%)
<b>Fontan-Modifikationen</b>	
Extrakardiale totale kavopulmonale Anastomose	22/61 (36,1%)
Intrakardiale totale kavopulmonale Anastomose	19/61 (31,1%)
APC/AVC/andere Modifikationen	20/61 (32,8%)
<b>Schweregrade von FALD</b>	
Fehlend/mild	14/60 (23,3%)
Moderat	19/60 (31,7%)
Schwer	27/60 (45%)

### 3.2. Bewertung der Leberfunktion

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Laboruntersuchung, der Leberultraschalluntersuchung und der TE aufgeführt. In Tabelle 5 sind die Ergebnisse des LiMax®-Tests dargestellt. Ausgenommen des mit dem Kruskal-Wallis-Test ermittelten Zusammenhangs zwischen dem Schweregrad der FALD und der maximalen Leberfunktionskapazität sind in dieser Arbeit angegebene *p*-Werte deskriptiver Natur.

In der Laboruntersuchung waren die Alanin-Aminotransferase (ALT) bei 8/61 Patienten (13,1 %), die Aspartat-Aminotransferase (AST) bei 6/61 Patienten (9,8 %) und das Bilirubin bei 19/61 Patienten (31,1 %) erhöht. Eine Erhöhung der  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ GT) konnte bei der Mehrheit der Patienten (50/61; 82 %) nachgewiesen werden. Eine Thrombozytopenie lag bei 17/61 Patienten (27,9 %) vor. Im Rahmen der standardisiert durchgeführten Leberultraschalluntersuchung konnten morphologische hepatische Veränderungen bei nahezu allen Fontan-Patienten nachgewiesen werden. Die häufigsten sonographischen Befunde waren ein heterogenes Leberparenchym (56/58, 96,6 %) sowie eine abnorme Architektur (51/58, 87,9 %) und Dilatation der Lebervenen (40/58, 69,0 %). Sonographische Zeichen einer Leberfibrose konnten bei 47/58 Patienten (81,0 %) nachgewiesen werden, während bei 7/60 Patienten (11,7 %) eine manifeste Leberzirrhose vorlag. Der mediane TE-Wert der Kohorte lag bei 25,0 kPa [IQR 14,6; 33,5].

**Tabelle 4: Laboruntersuchung, Lebersonographie und TE.**

	Median [IQR]	N (%)
<b>Laborwerte</b>		
ALT (U/l)	30 [25; 37]	8/61 (13,1%)
AST (U/l)	30 [26; 33,2]	6/61 (9,8%)
γGT (U/l)	90,6 [59,5; 122,1]	50/61 (82%)
Bilirubin (mg/dl)	0,99 [0,7; 1,5]	19/61 (31,1%)
Thrombozyten (G/l)	165 [137; 207]	17/61 (27,9%)
Cholinesterase (U/l)	8006 [6595,5; 9100,3]	2/60 (3,3%)
Albumin (g/dl)	4,4 [3,9; 4,7]	4/61 (6,6%)
<b>Sonographiebefunde</b>		
Hepatomegalie		11/58 (19%)
Splenomegalie		14/58 (24,1%)
Leberventhrombose		0/58 (0,0%)
Pfortaderthrombose		2/58 (3,4%)
Leberdysmorphie (ARL/HLL)		17/58 (29,3%)
Heterogenes Leberparenchym		56/58 (96,6%)
Oberflächennodularität		8/58 (13,8%)
Abnorme Lebervenenarchitektur		51/58 (87,9%)
Nicht kompressible <i>Vena cava inferior</i>		17/57 (29,8%)
Hyperechogene Läsionen		10/58 (17,2%)
Dilatation der Lebervenen		40/58 (69,0%)
Aszites		7/58 (12,1%)
Fibrose		47/58 (81%)
Zirrhose		7/60 (11,7%)
<b>TE (kPa)</b>		
<21,2		32/57 (56,1%)
21,3 - 27,6		6/57 (10,5%)
27,7 - 35,7		9/57 (15,8%)
>35,8		10/57 (17,5%)

ALT (Alanin-Aminotransferase), ARL/HLL (atropher rechter Leberlappen/hypertropher linker Leberlappen), AST (Aspartat-Aminotransferase), IQR (Interquartilsabstand), TE (transiente Elastographie), γGT (γ-Glutamyltransferase).

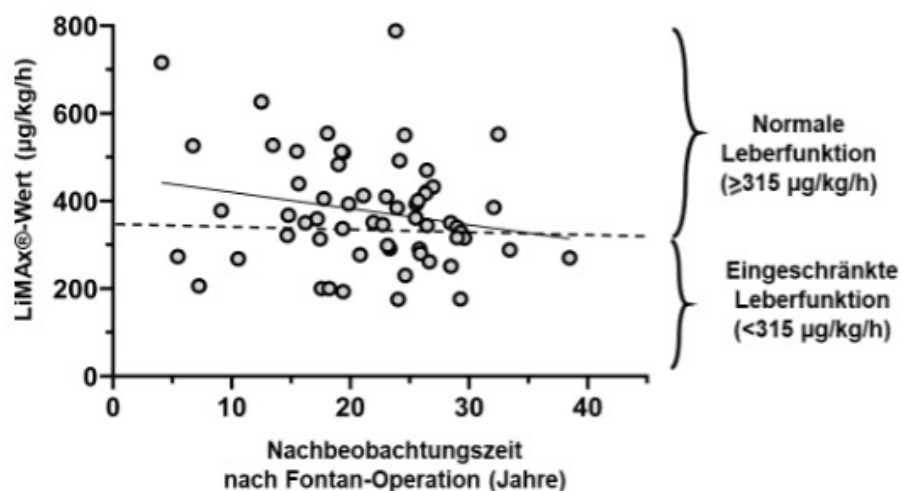
Die mediane maximale Leberfunktionskapazität betrug 351,0 µg/kg/h [IQR 289,0; 435,5]. Eine normale Leberfunktion ( $\geq 315$  µg/kg/h) wurde bei 43 Patienten und eine eingeschränkte Leberfunktion (140-314 µg/kg/h) bei 18 Patienten gemessen, während bei keinem Patienten schwere Leberschäden (0-139 µg/kg/h) festgestellt werden konnten.

**Tabelle 5: LiMAx®-Testergebnisse.**

	Median [IQR]	N (%)
<b>Maximale Leberfunktionskapazität</b>		
LiMAx®-Test (µg/kg/h)	351,0 [289,0; 435,5]	
<b>LiMAx®-Testergebnis</b>		
Normale Leberfunktion ( $\geq 315$ µg/kg/h)		43/61 (70,5%)
Eingeschränkte Leberfunktion (140-314 µg/kg/h)		18/61 (29,5%)
Schwere Leberschäden (0-139 µg/kg/h)		0/61 (0,0%)

IQR (Interquartilsabstand), LiMAx (*Maximum liver function capacity*/ Maximale Leberfunktionskapazität).

Es konnte keine Korrelation zwischen der maximalen Leberfunktionskapazität und der Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation festgestellt werden (Spearman's  $\rho = -0,192$ ,  $p = 0,138$ , Abb. 10).



**Abbildung 10: Korrelation zwischen maximaler Leberfunktionskapazität und der Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation.**

In Tabelle 6 sind Ergebnisse der Laborwertanalyse in Abhängigkeit von der enzymatischen Leberfunktion basierend auf dem LiMAx®-Testergebnis dargestellt. Die Laborwerte Bilirubin und  $\gamma$ GT waren bei Patienten mit einer eingeschränkten Leberfunktion signifikant höher als bei Patienten mit einer normalen Leberfunktion. Hinsichtlich der anderen untersuchten Laborparameter konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

**Tabelle 6: LiMAx®-Testergebnisse und Laborwerte.**

Laborwerte	LiMAx®-Testergebnis		p-Wert
	Normale Leberfunktion ( $\geq 315 \mu\text{g/kg/h}$ )	Eingeschränkte Leberfunktion (140-314 $\mu\text{g/kg/h}$ )	
ALT (U/l)	31 [26,5; 36,7]	27 [20,7; 38,5]	0,161
AST (U/l)	30 [25; 32,9]	30,1 [26,8; 38,0]	0,388
$\gamma$ GT (U/l)	78,6 [53,5; 110,4]	119,5 [78,8; 165,3]	<b>0,03</b>
Bilirubin (mg/dl)	0,94 [0,7; 1,2]	1,5 [0,8; 2,2]	<b>0,006</b>
Thrombozyten (G/l)	164 [137; 207,3]	169,5 [124,8; 203,5]	0,746
Cholinesterase (U/l)	8145 [6690,5; 9136,5]	7650,5 [6155,5; 8980,5]	0,514
Albumin (g/dl)	4,4 [4,0; 4,6]	4,2 [3,9; 4,7]	0,874

Die Daten sind als Median [IQR] angegeben.

ALT (Alanin-Aminotransferase), AST (Aspartat-Aminotransferase),  $\gamma$ GT ( $\gamma$ -Glutamyltransferase), LiMAx (*Maximum liver function capacity*/ Maximale Leberfunktionskapazität).

Bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion konnte eine Leberzirrhose signifikant häufiger diagnostiziert werden als bei Patienten mit einer normalen Leberfunktion (Tab. 7). Außerdem war bei Patienten mit Leberzirrhose die maximale Leberfunktionskapazität im Vergleich zu Patienten ohne Leberzirrhose signifikant reduziert (270,0  $\mu\text{g/kg/h}$  [230,0; 315,0] vs. 367,0  $\mu\text{g/kg/h}$  [305,5; 476,5],  $p = 0,013$ ).

**Tabelle 7: LiMAx®-Testergebnisse und Sonographiebefunde.**

Sonographiebefund	LiMAx®-Testergebnis		p-Wert
	Normale Leberfunktion (≥315 µg/kg/h)	Eingeschränkte Leberfunktion (140-314 µg/kg/h)	
Hepatomegalie	8/11 (72,7%)	3/11 (27,3%)	1,000
Splenomegalie	6/14 (42,9%)	8/14 (57,1%)	<b>0,016</b>
Leberventhrombose	0/0 (0,0%)	0/0 (0,0%)	—
Pfortaderthrombose	2/2 (100%)	0/2 (0,0%)	1,000
Leberdysmorphie (ARL/HLL)	12/17 (70,6%)	5/17 (29,4%)	1,000
Heterogenes Leberparenchym	40/56 (71,4%)	16/56 (28,6%)	0,504
Oberflächennodularität	4/8 (50%)	4/8 (50%)	0,216
Abnorme Lebervenenarchitektur	38/51 (74,5%)	13/51 (25,5%)	0,178
Nicht kompressible Vena cava	12/17 (70,6%)	5/17 (29,4%)	1,000
Hyperechogene Läsionen	9/10 (90%)	1/10 (10%)	0,253
Dilatation der Lebervenen	28/40 (70%)	12/40 (30%)	1,000
Aszites	3/7 (42,9%)	4/7 (57,1%)	0,178
Fibrose	36/47 (76,6%)	11/47 (23,4%)	0,064
Zirrhose	2/7 (28,6%)	5/7 (71,4%)	<b>0,021</b>

Die Daten sind als Häufigkeit (%) angegeben.

ARL/HLL (atropher rechter Leberlappen/hypertropher linker Leberlappen), LiMAx (*Maximum liver function capacity*/ Maximale Leberfunktionskapazität).

Des Weiteren waren die TE-Werte bei Patienten mit einer eingeschränkten Leberfunktion signifikant höher als bei Patienten mit einer normalen Leberfunktion (Tab. 8).

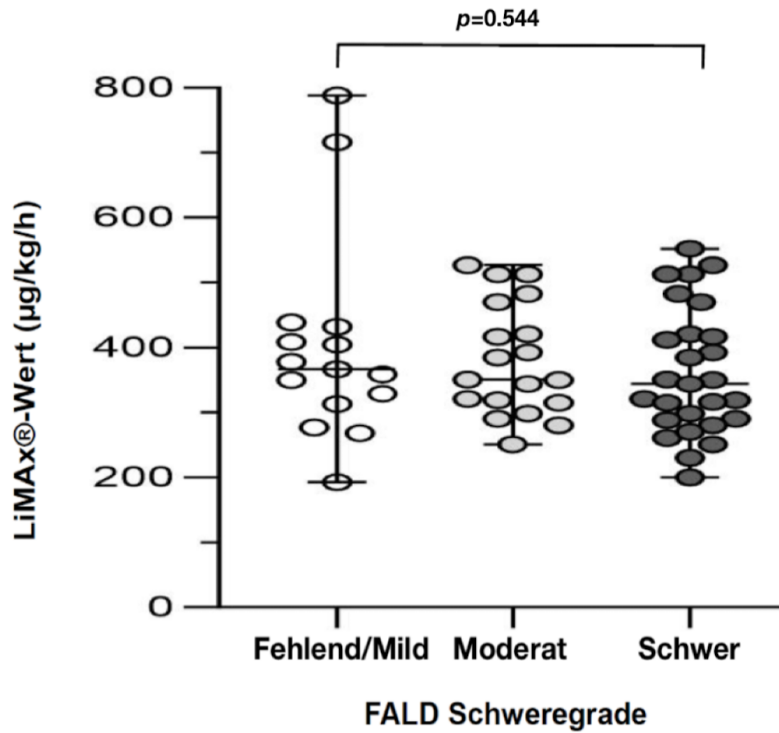
**Tabelle 8: LiMAx®-Testergebnisse und TE.**

TE (kPa)	LiMAx®-Testergebnis		p-Wert
	Normale Leberfunktion (≥315 µg/kg/h)	Eingeschränkte Leberfunktion (140-314 µg/kg/h)	
	18,2 [14,0; 25,1]	32,45 [14,93; 40,45]	<b>0,025</b>

Die Daten sind als Median [IQR] angegeben.

LiMAx (*Maximum liver function capacity*/ Maximale Leberfunktionskapazität), TE (transiente Elastographie).

Die maximale Leberfunktionskapazität unterschied sich nicht signifikant zwischen den unterschiedlichen Schweregraden von FALD ( $p = 0,544$ , Abb. 11). Der mediane LiMAX®-Wert betrug 372,5  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  [IQR 304; 433,8] bei Patienten mit fehlender/milder FALD, 351  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  [IQR 315; 470] bei Patienten mit moderater FALD und 340  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  [IQR 261; 492] bei Patienten mit schwerer FALD.



**Abbildung 11: Darstellung der maximalen Leberfunktionskapazität in Abhängigkeit von den FALD Schweregraden.**



## 4. Diskussion

### 4.1. Bedeutung und Anwendung des LiMAx®-Tests in der Nachsorge von Fontan-Patienten

Die FALD umfasst ein breites Spektrum an strukturellen und funktionellen Leberanomalien, welche durch die unphysiologische Fontan-Zirkulation verursacht werden (13). Verschiedene Studien konzentrieren sich auf die Erkennung und Überwachung der FALD (14, 15, 17, 26, 27), aber ihre klinische Bedeutung und Bedeutsamkeit für die therapeutische Entscheidungsfindung bleibt unklar. Die Evaluierung der Leberfunktion mittels LiMAx®-Test könnte helfen, frühzeitig einen Krankheitsprozess zu diagnostizieren und rechtzeitig eine Indikation zur medikamentösen oder invasiven Optimierung der Fontan-Hämodynamik zu stellen.

Die maximale Leberfunktionskapazität war bei der Mehrheit unserer Patienten normal, obwohl bei nahezu der Hälfte der Patientenkohorte anhand ihrer laborchemischen oder strukturell-morphologischen Veränderungen FALD als moderat oder schwergradig klassifiziert werden konnte.

Weitere wichtige Ergebnisse sind, dass bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion die beiden Cholestaseparameter Bilirubin und  $\gamma$ GT signifikant höher waren als bei Patienten mit einer normalen Leberfunktion. Dies könnte durch den folgenden Pathomechanismus erklärt werden: Bei Patienten mit schwerer Rechtsherzinsuffizienz wurden bereits morphologische und laborchemische Leberveränderungen, welche als „kongestive Hepatopathie“ bezeichnet werden, beobachtet (39). Ein Anstieg der mit Cholestase verbundenen Laborparameter Bilirubin und  $\gamma$ GT ist die häufigste feststellbare Veränderung (39). Anhand unserer Ergebnisse konnten wir nachweisen, dass dies auch Patienten mit Fontan-Zirkulation betrifft. Der zugrunde liegende Mechanismus ist vermutlich auf den erhöhten zentralvenösen Druck zurückzuführen: Dieser wird in die zentralen Sinusoide fortgeleitet und verursacht eine mechanische Kompression der Gallenkanälchen, wodurch der normale Gallenabfluss in Richtung Portalregion vermindert wird, was in einem Anstieg der Cholestaseparameter resultiert (39). Der hiermit korrelierende Abfall des LiMAx®-Wertes könnte auf eine durch die zentrale Stauung verursachte Einschränkung der Leberfunktion hinweisen.

Verschiedene Studien zeigen, dass die meisten Patienten mit einer Fontan-Zirkulation sonographische Veränderungen des Leberparenchyms aufweisen (15, 24). Dies konnten wir ebenfalls bestätigen – bei jedem Patienten in unserer Kohorte konnte mindestens

eine morphologische Veränderung im Ultraschall festgestellt werden. Es bleibt aber unklar, welche klinische und prognostische Bedeutung diese Veränderungen haben. Darüber hinaus wurde bei 11,7 % unserer Patienten eine manifeste Leberzirrhose diagnostiziert. Sie ist das Endstadium verschiedener chronischer Lebererkrankungen, einschließlich der FALD. Dabei kommt es zur irreversiblen Zerstörung und fibrösen Transformation des Lebergewebes sowie zur Leberfunktionsstörung (40). Mithilfe des LiMAx®-Tests konnten wir signifikante Unterschiede der maximalen Leberfunktionskapazität bei Patienten mit und ohne Zirrhose nachweisen, was wiederum bestätigt, dass eine Zirrhose mit signifikanten Einschränkungen der enzymatischen Leberfunktionsfähigkeit verbunden ist. Bei keinem unserer Patienten wurde ein hepatozelluläres Karzinom diagnostiziert, welches eine seltene, jedoch schwerwiegende Langzeitkomplikation nach einer Fontan-Operation ist und mit einer Mortalitätsrate von ca. 50 % in den ersten 12 Monaten nach der Diagnosestellung einhergeht (41, 42).

Die TE-Werte waren bei Patienten mit einer eingeschränkten Leberfunktion signifikant höher als bei Patienten mit einer normalen Leberfunktion. Darüber hinaus überstiegen die TE-Werte unserer Patienten deutlich die normalen Werte in der Allgemeinbevölkerung ( $\leq 5,5$  kPa) (43). Höhere TE-Werte sind mit einer erhöhten Lebersteifigkeit und einer fortgeschrittenen Leberfibrose verbunden (44). Diese zunehmenden Veränderungen im Leberparenchym beeinflussen die Leberfunktion (40). Die LiMAx®-Werte könnten somit als nützlicher Indikator für die Schwere der Lebererkrankung dienen und möglicherweise bei der Identifizierung und Überwachung von Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion von Nutzen sein. Dennoch bedarf es weiterer Studien, um ihre prognostische Bedeutung zu klären.

Ein weiteres Ergebnis unserer Studie war der fehlende Zusammenhang zwischen den anhand von Ergebnissen aus Laborwertanalyse, Leberultraschall und TE festgelegten Schweregraden der FALD und der enzymatischen Leberfunktion. Hierfür könnte es mehrere Begründungen geben: Zum einen führen die laborchemischen und morphologischen Veränderungen während der Entwicklung und des Fortschreitens der FALD nicht zwangsläufig zu einer Funktionseinschränkung der Leber (24). Des Weiteren hängt der Verlauf der FALD von verschiedenen Faktoren, wie der Anzahl und Art der Voroperationen, dem Ausmaß der chronischen hepatischen Stauung oder dem verminderten Herzzeitvolumen, ab (15, 17, 45, 46). Es ist jedoch nicht klar, wie lange

diese Veränderungen bestehen müssen, damit es zu einer nachweisbaren Leberfunktionsstörung kommt (24).

Darüber hinaus konnte in unserer Studie keine Korrelation zwischen den LiMAx®-Werten und der Fontan-Nachbeobachtungszeit festgestellt werden. Das deutet darauf hin, dass sich der LiMAx®-Wert und die Fontan-Nachbeobachtungszeit unabhängig voneinander verhalten. Bereits durchgeführte Studien haben deutlich gemacht, dass die Zeit nach einer Fontan-Operation einen erheblichen Einfluss auf den Verlauf der FALD und somit die Leberfunktion hat (14, 15, 22, 23). Obwohl unsere Ergebnisse diese Beobachtung nicht bestätigen konnten, ist es wichtig anzumerken, dass unsere Querschnittstudie eine Momentaufnahme ist. Längsschnittstudien mit größeren Patientenzahlen sind notwendig, um die Veränderungen der maximalen Leberfunktionskapazität im Laufe der Fontan-Nachbeobachtungszeit zu untersuchen und den konkreten Verlauf dieser Erkrankung zu evaluieren.

Eine der größten Herausforderungen bei der Nachsorge von Fontan-Patienten ist die Entscheidung, welche invasiven und nicht-invasiven diagnostischen Verfahren erforderlich sind (24). Unsere Erkenntnisse können wichtige Auswirkungen auf die routinemäßig durchgeführte hepatische Nachsorge von Fontan-Patienten haben. Im klinischen Alltag wäre der LiMAx®-Test als ergänzende Untersuchung sinnvoll und sollte routinemäßig bei allen Fontan-Patienten bei Vollendung des 18. Lebensjahres durchgeführt werden. Bei LiMAx®-Werten  $<315 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$  sollte die Untersuchung nach 12 Monaten wiederholt werden, um einen Progress frühzeitig zu erkennen. Bei LiMAx®-Werten im Normbereich wäre eine Wiederholung des Tests nach 24 - 48 Monaten ausreichend. Bei auffälliger LiMAx®-Untersuchung ist es wichtig nicht nur auf die Laborwerte und die Ergebnisse der nicht-invasiven Modalitäten wie Ultraschall oder TE zu achten, sondern weiterführende diagnostische Verfahren in Betracht zu ziehen. Hierzu gehören die Spiroergometrie, das kardiales MRT inklusive einer MR-Angiographie sowie eine Herzkatheteruntersuchung, welche zum Ausschluss einer Verschlechterung der Herzfunktion oder dem Vorliegen von Obstruktionen im Fontan-Kreislauf durchgeführt werden sollten. Eine Verschlechterung der maximalen Leberfunktionskapazität könnte somit als Indikation zur Optimierung der medikamentösen Therapie oder Initiierung von invasiveren Therapien genutzt werden.

Weiterhin könnte die Durchführung einer Leberbiopsie sinnvoll sein. Obwohl Leberbiopsien bei Fontan-Patienten aufgrund der dauerhaften oralen Antikoagulation sowie der häufig vorliegenden Gefäßanomalien mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen wie Blutung oder Organperforation einhergehen, sind sie von grundlegender Bedeutung für die histopathologische Untersuchung des Leberparenchyms und somit für die Beurteilung von Lebererkrankungen (47). Der LiMAx®-Test ist ein nützliches diagnostisches Instrument zur Quantifizierung der Leberfunktionsstörung, welcher bei unauffälligem Ergebnis trotz morphologischer oder laborchemischer hepatischer Auffälligkeiten die Durchführung einer Leberbiopsie ersparen könnte. Nichtsdestotrotz sind weitere Studien erforderlich, um den Zusammenhang zwischen der enzymatischen Leberfunktion und den histologischen Veränderungen der FALD zu untersuchen (48).

#### **4.2. Bedeutung der maximalen Leberfunktionskapazität für die Evaluation für eine Herz- oder Herzlebertransplantation**

Derzeit ist eine Herztransplantation die einzige kurative Therapie für Patienten mit einem Fontan-Versagen, da bisher keine evidenzbasierten medizinischen Behandlungen existieren (2, 49, 50). Dennoch bleibt die Herztransplantation bei erwachsenen Fontan-Patienten ein chirurgischer Eingriff mit einer hohen Mortalität und Morbidität, welche unter anderem durch die fortgeschrittene Leberschädigung verursacht wird (51). Des Weiteren gibt es keine Leitlinien, welche den optimalen Zeitpunkt einer Herztransplantation bei Fontan-Patienten definieren. Die Diagnose eines Fontan-Versagens stellt eine große Herausforderung dar, da einerseits keine einheitliche Definition vorliegt und andererseits die Mehrheit der Patienten aufgrund des schleichenden Verlaufes der Erkrankung und einer individuellen Adaptation an den reduzierten klinischen Zustand keine wesentliche Beeinträchtigungseinschränkung zeigt (52). Das kann dazu führen, dass die Patienten verzögert auf die Transplantationsliste aufgenommen werden, was sich negativ auf das Transplantationsergebnis auswirken kann. In unserer Kohorte war die maximale Leberfunktionskapazität bei Patienten, die für eine Herztransplantation gelistet waren oder für eine solche evaluiert wurden ( $n = 4$ ), im Vergleich zur übrigen Kohorte deutlich reduziert ( $247,0 \mu\text{g/kg/h}$  [IQR 182,8, 331,5] vs.  $361,0 \mu\text{g/kg/h}$  [IQR 294,5, 454,5],  $p = 0,028$ ). Die Beobachtung deutet darauf hin, dass die FALD bei diesen Patienten weit fortgeschritten war und bereits zu einer funktionellen Beeinträchtigung der Leber führte. Der LiMAx®-Test kann eine wertvolle ergänzende diagnostische Maßnahme zur

Beurteilung der Leberfunktion bei Fontan-Patienten darstellen, weil er eine reproduzierbare und zuverlässige Information über die enzymatische Funktion von Hepatozyten ermöglicht. Da eine Verschlechterung der maximalen Leberfunktionskapazität erst spät im Krankheitsverlauf aufzutreten scheint, sollte ihr Auftreten Anlass sein, eine Herztransplantation bei Patienten mit einem Fontan-Versagen in Erwägung zu ziehen. Ein weiterer aktueller Diskussionspunkt in der Versorgung von Patienten mit einem Fontan-Kreislauf ist die Indikation einer kombinierten Herz- und Lebertransplantation. Bisher gibt es keine Leitlinie, welche klare Indikationskriterien definiert. Der LiMAx®-Text könnte in diesem Zusammenhang ebenfalls als weiterführendes Diagnostikum für die Indikationsstellung einer zusätzlichen Lebertransplantation genutzt werden.

### **4.3. Limitationen**

Es handelt sich um eine Querschnittstudie, die an einem einzigen Zentrum mit einer kleinen Patientenkohorte durchgeführt wurde. Zukünftige, vorzugsweise multizentrische Studien, sind notwendig, um die Beurteilung der Leberfunktion bei Fontan-Patienten umfassend zu bewerten. Außerdem ist  $^{13}\text{C}$ -Methacetin nur für erwachsene Patienten zugelassen, daher konnten pädiatrische Patienten nicht in diese Studie einbezogen werden. Nach intravenöser Injektion wird  $^{13}\text{C}$ -Methacetin durch eine hepatische mikrosomale Deacylierung in Paracetamol und  $^{13}\text{CO}_2$  umgewandelt. Das entstehende  $^{13}\text{CO}_2$  wird als Bikarbonat nicht direkt und ausschließlich in die Lunge transportiert, sondern teilweise im ganzen Körper verteilt. Die inter- und intraindividuelle Bikarbonat-Kinetik könnte die respiratorische  $^{13}\text{CO}_2$ -Ausscheidung und somit das LiMAx®-Testergebnis beeinflussen (53). Obwohl unsere Ergebnisse auf ein früheres Auftreten von morphologischen Veränderungen im Vergleich zu funktionellen Beeinträchtigungen hindeuten, können die zeitlichen Beziehungen zwischen dem Fortschreiten der FALD und den Veränderungen der maximalen Leberfunktionskapazität nicht durch unser Querschnittstudiendesign bestimmt werden und erfordern Längsschnittstudien. Zusätzliche Diagnoseverfahren wie histologische Analysen von Biopsien und Leber-MRT wurden nicht in unsere routinemäßige Leberbeurteilung einbezogen. Dies müsste in Zukunft zusammen mit der maximalen Leberfunktionskapazität evaluiert werden. Der FALD-Score und die Klassifizierung des FALD-Schweregrads wurden bisher nicht mit größeren Patientenzahlen oder in multizentrischen Einrichtungen evaluiert oder validiert (28).

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Bei univentrikulären Herzfehlern handelt es sich um ein hochkomplexes Krankheitsbild, das wiederholte Operationen und Herzkatheterinterventionen erfordert. In den letzten Jahrzehnten ist die Lebenserwartung der Fontan-Patienten angestiegen. Je älter die Fontan-Patienten werden, desto mehr Organsysteme können durch den unphysiologischen Fontan-Kreislauf beeinträchtigt werden. Lange Zeit lag der Fokus auf akuten Komplikationen, weil die Leberveränderungen in der Regel schleichend auftreten und erst im Spätstadium zu Symptomen führen. Welche diagnostischen Methoden bei der FALD den größten Nutzen bringen, bleibt Gegenstand der aktuellen wissenschaftlichen Diskussion. Aus diesem Grund haben wir die enzymatische Leberfunktion bei Fontan-Patienten untersucht.

Es handelt sich bei der vorliegenden Arbeit um eine retrospektive Querschnittstudie. Die Daten wurden zwischen 2017 und 2022 erhoben. Hierfür wurden 61 Fontan-Patienten, die über 18 Jahre alt sind und im Deutschen Herzzentrum der Charité behandelt wurden, untersucht. Das mediane Alter der Patienten betrug 29,3 Jahre und die mediane Nachbeobachtungszeit nach Fontan-Operation 23,1 Jahre.

Die Untersuchung der maximalen Leberfunktionskapazität mittels LiMAx®-Test ergab eine normale Leberfunktion bei 43 Patienten und eine eingeschränkte Leberfunktion bei 18 Patienten. Bei keinem Patienten konnten schwere Leberschäden festgestellt werden. Die Laborwerte Bilirubin und  $\gamma$ GT waren bei Patienten mit einer eingeschränkten Leberfunktion signifikant höher im Vergleich zu denen mit normaler Leberfunktion, wobei auch die Leberzirrhose bei diesen Patienten signifikant häufiger diagnostiziert wurde als bei denen mit normaler Leberfunktion. Die TE-Werte waren bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion signifikant höher als bei Patienten mit normaler Leberfunktion. Die maximale Leberfunktionskapazität unterschied sich nicht signifikant zwischen den verschiedenen Schweregraden von FALD. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Entwicklung und das Fortschreiten von FALD kein einheitlicher Prozess ist. Insbesondere scheinen morphologische Veränderungen, die mittels Laboruntersuchungen, Sonographie und/oder TE festgestellt werden, einer funktionellen Beeinträchtigung vorauszugehen. Dies wird durch erhaltene enzymatische Leberfunktion bei mehreren Patienten mit signifikanten morphologischen Leberveränderungen belegt.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass der LiMAx®-Test eine sinnvolle Untersuchung zur Bestimmung der enzymatischen Leberfunktion bei Fontan-Patienten ist. Mit Ausblick auf die kommenden Jahre müssen weitere Studien mit größeren Patientenzahlen oder in multizentrischen Einrichtungen erfolgen, um die Beurteilung der Leberfunktion umfassend zu bewerten, damit die Nachsorge der Fontan-Patienten verbessert werden kann.

## Literaturverzeichnis

1. Kuroczynski W. Development of the Fontan procedure as therapeutic concept for children with complex congenital heart disease. *Herz*. 2007;32(3):241-7.
2. Vallbracht C, Kaltenbach M. *Herz Kreislauf kompakt*. Darmstadt: Steinkopff; 2006. p. 229-54.
3. Botto DL, Correa, A. Decreasing the burden of congenital heart anomalies: an epidemiologic evaluation of risk factors and survival. *Progress in Pediatric Cardiology*. 2003;18(2):111-21.
4. Blum U, Meyer H, Beerbaum P, Peuster M. *Kompendium angeborene Herzfehler bei Kindern*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2021. p. 294-302.
5. Keck EW, Brode PE. *Pädiatrische Kardiologie*. 5th ed. München, Jena: Urban & Fischer; 2002. p. 129-31, 225-39.
6. Haverich A, Ziemer G. *Herzchirurgie: Die Eingriffe am Herzen und an den herznahen Gefäßen*. 3. Aufl. ed. Berlin, Heidelberg: Springer; 2010. p. 331-63.
7. Fontan F, Baudet E. Surgical repair of tricuspid atresia. *Thorax*. 1971;26(3):240-8.
8. Lee CN, Schaff HV, Danielson GK, Puga FJ, Driscoll DJ. Comparison of atriopulmonary versus atrioventricular connections for modified Fontan/Kreutzer repair of tricuspid valve atresia. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986;92(6):1038-43.
9. Poh CL, d'Udekem Y. Life After Surviving Fontan Surgery: A Meta-Analysis of the Incidence and Predictors of Late Death. *Heart Lung Circ*. 2018;27(5):552-9.
10. Khairy P, Fernandes SM, Mayer JE, Jr., Triedman JK, Walsh EP, Lock JE, Landzberg MJ. Long-term survival, modes of death, and predictors of mortality in patients with Fontan surgery. *Circulation*. 2008;117(1):85-92.
11. Broda CR, Downing TE, John AS. Diagnosis and management of the adult patient with a failing Fontan circulation. *Heart Fail Rev*. 2020;25(4):633-46.
12. Sathananthan G, Lowe BS, Hornung T. Editor's Pick: The Fontan Circulation. *EMJ Cardiol*. 2016;4(1):76-83. Figure 1, Different types of Fontan procedure; p. 77.



13. Téllez L, Rodríguez de Santiago E, Albillos A. Fontan-Associated Liver Disease: Pathophysiology, Staging, and Management. *Semin Liver Dis.* 2021;41(4):538-50.
14. Goldberg DJ, Surrey LF, Glatz AC, Dodds K, O'Byrne ML, Lin HC, Fogel M, Rome JJ, Rand EB, Russo P, Rychik J. Hepatic Fibrosis Is Universal Following Fontan Operation, and Severity is Associated With Time From Surgery: A Liver Biopsy and Hemodynamic Study. *J Am Heart Assoc.* 2017;6(5).
15. Kieseewetter CH, Sheron N, Vettukattill JJ, Hacking N, Stedman B, Millward-Sadler H, Haw M, Cope R, Salmon AP, Sivaprakasam MC, Kendall T, Keeton BR, Iredale JP, Veldtman GR. Hepatic changes in the failing Fontan circulation. *Heart.* 2007;93(5):579-84.
16. Elder RW, McCabe NM, Hebson C, Veledar E, Romero R, Ford RM, Mahle WT, Kogon BE, Sahu A, Jokhadar M, McConnell ME, Book WM. Features of portal hypertension are associated with major adverse events in Fontan patients: the VAST study. *Int J Cardiol.* 2013;168(4):3764-9.
17. Rychik J, Veldtman G, Rand E, Russo P, Rome JJ, Krok K, Goldberg DJ, Cahill AM, Wells RG. The precarious state of the liver after a Fontan operation: summary of a multidisciplinary symposium. *Pediatr Cardiol.* 2012;33(7):1001-12.
18. Téllez L, Payancé A, Tjwa E, Del Cerro MJ, Idorn L, Ovroutski S, De Bruyne R, Verkade HJ, De Rita F, de Lange C, Angelini A, Paradis V, Rautou PE, García-Pagán JC. EASL-ERN position paper on liver involvement in patients with Fontan-type circulation. *J Hepatol.* 2023;79(5):1270-301.
19. de Lange C, Möller T, Hebelka H. Fontan-associated liver disease: Diagnosis, surveillance, and management. *Front Pediatr.* 2023;11:1100514.
20. Schwartz MC, Sullivan L, Cohen MS, Russo P, John AS, Guo R, Guttenberg M, Rand EB. Hepatic pathology may develop before the Fontan operation in children with functional single ventricle: an autopsy study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;143(4):904-9.

21. Johnson JA, Cetta F, Graham RP, Smyrk TC, Driscoll DJ, Phillips SD, John AS. Identifying predictors of hepatic disease in patients after the Fontan operation: a postmortem analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2013;146(1):140-5.
22. Baek JS, Bae EJ, Ko JS, Kim GB, Kwon BS, Lee SY, Noh CI, Park EA, Lee W. Late hepatic complications after Fontan operation; non-invasive markers of hepatic fibrosis and risk factors. *Heart.* 2010;96(21):1750-5.
23. Schleiger A, Salzmänn M, Kramer P, Danne F, Schubert S, Bassir C, Müller T, Müller HP, Berger F, Ovroutski S. Severity of Fontan-Associated Liver Disease Correlates with Fontan Hemodynamics. *Pediatr Cardiol.* 2020;41(4):736-46.
24. Pundi K, Pundi KN, Kamath PS, Cetta F, Li Z, Poterucha JT, Driscoll DJ, Johnson JN. Liver Disease in Patients After the Fontan Operation. *Am J Cardiol.* 2016;117(3):456-60.
25. Singh S, Roy B, Pike N, Daniel E, Ehlert L, Lewis AB, Halnon N, Woo MA, Kumar R. Altered brain diffusion tensor imaging indices in adolescents with the Fontan palliation. *Neuroradiology.* 2019;61(7):811-24.
26. Friedrich-Rust M, Koch C, Rentzsch A, Sarrazin C, Schwarz P, Herrmann E, Lindinger A, Sarrazin U, Poynard T, Schäfers HJ, Zeuzem S, Abdul-Khaliq H. Noninvasive assessment of liver fibrosis in patients with Fontan circulation using transient elastography and biochemical fibrosis markers. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2008;135(3):560-7.
27. Fidai A, Dallaire F, Alvarez N, Balon Y, Clegg R, Connelly M, Dicke F, Fruitman D, Harder J, Myers K, Patton DJ, Prieur T, Vorhies E, Myers RP, Martin SR, Greenway SC. Non-invasive Investigations for the Diagnosis of Fontan-Associated Liver Disease in Pediatric and Adult Fontan Patients. *Front Cardiovasc Med.* 2017;4:15.
28. Schleiger A, Kramer P, Salzmänn M, Danne F, Schubert S, Bassir C, Müller T, Tacke F, Müller H-P, Berger F, Photiadis J, Ovroutski S. Evaluation of Fontan failure by classifying the severity of Fontan-associated liver disease: a single-centre cross-sectional study. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2020;59(2):341-8.

29. Berzigotti A, Castera L. Update on ultrasound imaging of liver fibrosis. *J Hepatol.* 2013;59(1):180-2.
30. Han SK, Kim MY, Kang SH, Baik SK. Application of ultrasound for the diagnosis of cirrhosis/portal hypertension. *J Med Ultrason (2001).* 2022;49(3):321-31.
31. Sandrin L, Fourquet B, Hasquenoph JM, Yon S, Fournier C, Mal F, Christidis C, Ziol M, Poulet B, Kazemi F, Beaugrand M, Palau R. Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis. *Ultrasound Med Biol.* 2003;29(12):1705-13.
32. Nguyen-Khac E, Chatelain D, Tramier B, Decrombecque C, Robert B, Joly JP, Brevet M, Grignon P, Lion S, Le Page L, Dupas JL. Assessment of asymptomatic liver fibrosis in alcoholic patients using fibroscan: prospective comparison with seven non-invasive laboratory tests. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;28(10):1188-98.
33. Patel K, Wilder J. Fibroscan. *Clin Liver Dis (Hoboken).* 2014;4(5):97-101.
34. Echosens. Abb. 2: Examination room set-up [Image on the internet]. c2023 [cited 2023 Aug 12]. Available from: <https://www.echosens.com/fibroscanprocedure/>.
35. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Niehues SM, Seehofer D, Neuhaus P. The LiMAX test: a new liver function test for predicting postoperative outcome in liver surgery. *HPB (Oxford).* 2010;12(2):139-46.
36. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne K, Martus P, Fricke M, Lehmann S, Niehues SM, Schwabe M, Lemke A-J, Neuhaus P. Prediction of Postoperative Outcome After Hepatectomy With a New Bedside Test for Maximal Liver Function Capacity. *Annals of Surgery.* 2009;250(1):119-25.
37. Jara M, Bednarsch J, Valle E, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, Seehofer D, Jung T, Stockmann M. Reliable assessment of liver function using LiMAX. *J Surg Res.* 2015;193(1):184-9.
38. Humedics. Abb. 3: Echtzeit-Leberfunktionstest mit Hilfe des LiMAX-Wertes [Image on the internet]. c2022 [cited 2022 Dec 01]. Available from: <https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html>.

39. Koehne de Gonzalez AK, Lefkowitz JH. Heart Disease and the Liver: Pathologic Evaluation. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017;46(2):421-35.
40. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet.* 2014;383(9930):1749-61.
41. Egbe AC, Poterucha JT, Warnes CA, Connolly HM, Baskar S, Ginde S, Clift P, Kogon B, Book WM, Walker N, Wagenaar L, Moe T, Oechslin E, Kay WA, Norris M, Gordon-Walker T, Dillman JR, Trout A, Anwar N, Hoskoppal A, Veldtman GR. Hepatocellular Carcinoma After Fontan Operation: Multicenter Case Series. *Circulation.* 2018;138(7):746-8.
42. Possner M, Gordon-Walker T, Egbe AC, Poterucha JT, Warnes CA, Connolly HM, Ginde S, Clift P, Kogon B, Book WM, Walker N, Wagenaar LJ, Moe T, Oechslin E, Kay WA, Norris M, Dillman JR, Trout AT, Anwar N, Hoskoppal A, Broering DC, Bzeizi K, Veldtman G. Hepatocellular carcinoma and the Fontan circulation: Clinical presentation and outcomes. *Int J Cardiol.* 2021;322:142-8.
43. Roulot D, Czernichow S, Le Clésiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M. Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol.* 2008;48(4):606-13.
44. Wu FM, Opotowsky AR, Raza R, Harney S, Ukomadu C, Landzberg MJ, Valente AM, Breitbart RE, Singh MN, Gauvreau K, Jonas MM. Transient elastography may identify Fontan patients with unfavorable hemodynamics and advanced hepatic fibrosis. *Congenit Heart Dis.* 2014;9(5):438-47.
45. Camposilvan S, Milanesi O, Stellin G, Pettenazzo A, Zancan L, D'Antiga L. Liver and cardiac function in the long term after Fontan operation. *Ann Thorac Surg.* 2008;86(1):177-82.
46. Téllez L, Rodríguez-Santiago E, Albillos A. Fontan-Associated Liver Disease: A Review. *Ann Hepatol.* 2018;17(2):192-204.
47. Neuberger J, Patel J, Caldwell H, Davies S, Hebditch V, Hollywood C, Hubscher S, Karkhanis S, Lester W, Roslund N, West R, Wyatt JI, Heydtmann M. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice from the British Society of Gastroenterology, the

Royal College of Radiologists and the Royal College of Pathology. *Gut*. 2020;69(8):1382-403.

48. Malinowski M, Jara M, Lüttgert K, Orr J, Lock JF, Schott E, Stockmann M. Enzymatic liver function capacity correlates with disease severity of patients with liver cirrhosis: a study with the LiMAx test. *Dig Dis Sci*. 2014;59(12):2983-91.

49. Ghanayem NS, Berger S, Tweddell JS. Medical management of the failing Fontan. *Pediatr Cardiol*. 2007;28(6):465-71.

50. Miller JR, Lancaster TS, Callahan C, Abarbanell AM, Eghtesady P. An overview of mechanical circulatory support in single-ventricle patients. *Transl Pediatr*. 2018;7(2):151-61.

51. Berg CJ, Bauer BS, Hageman A, Aboulhosn JA, Reardon LC. Mortality Risk Stratification in Fontan Patients Who Underwent Heart Transplantation. *Am J Cardiol*. 2017;119(10):1675-9.

52. Martino D, Rizzardi C, Vigezzi S, Guariento C, Sturniolo G, Tesser F, Salvo GD. Long-term management of Fontan patients: The importance of a multidisciplinary approach. *Front Pediatr*. 2022;10:886208.

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

## **Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Marta Pileckaite, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Untersuchung der enzymatischen Leberfunktion bei Fontan-Patienten / Analysis of enzymatic liver function in Fontan patients“ 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](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

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

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

---

Datum

---

Unterschrift

## **Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Marta Pileckaite hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

Schleiger A, Kramer P, Sallmon H, Jentsch N, Pileckaite M, Danne F, Schafstedde M, Müller HP, Müller T, Tacke F, Jara M, Stockmann M, Berger F, Ovroutski S. Morphologic Alterations Precede Functional Hepatic Impairment as Determined by <sup>13</sup>C-Methacetin Liver Function Breath Test in Adult Fontan Patients. *Front Cardiovasc Med.* 2021 Dec 23;8:764009. doi: 10.3389/fcvm.2021.764009.

Beitrag im Einzelnen:

Marta Pileckaite war mit einem weiteren Doktoranden verantwortlich für die Einbestellung der Patienten und Durchführung der LiMAX®-Untersuchung. Des Weiteren hat sie sich an der Erstellung einer Datenbank sowie Auswertung der Daten beteiligt.

Publikation 2:

Schleiger A, Kramer P, Sallmon H, Jentsch N, Pileckaite M, Danne F, Schafstedde M, Müller HP, Müller T, Tacke F, Jara M, Stockmann M, Berger F, Ovroutski S. Functional hepatic deterioration determined by <sup>13</sup>C-methacetin breath test is associated with impaired hemodynamics and late Fontan failure in adults. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Sep 7;9:952080. doi: 10.3389/fcvm.2022.952080.

Beitrag im Einzelnen:

Marta Pileckaite war mit einem weiteren Doktoranden verantwortlich für die Einbestellung der Patienten und Durchführung der LiMAX®-Untersuchung. Weiterhin hat sie sich an der Auswertung der im Rahmen der Studien erhobenen Daten beteiligt.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## **Lebenslauf**

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



## Publikationsliste

2022

Schleiger A, Kramer P, Sallmon H, Jentsch N, Pileckaite M, Danne F, Schafstedde M, Müller HP, Müller T, Tacke F, Jara M, Stockmann M, Berger F, Ovroutski S. Functional hepatic deterioration determined by <sup>13</sup>C-methacetin breath test is associated with impaired hemodynamics and late Fontan failure in adults. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Sep 7;9:952080. doi: 10.3389/fcvm.2022.952080

2021

Schleiger A, Kramer P, Sallmon H, Jentsch N, Pileckaite M, Danne F, Schafstedde M, Müller HP, Müller T, Tacke F, Jara M, Stockmann M, Berger F, Ovroutski S. Morphologic Alterations Precede Functional Hepatic Impairment as Determined by <sup>13</sup>C-Methacetin Liver Function Breath Test in Adult Fontan Patients. *Front Cardiovasc Med.* 2021 Dec 23;8:764009. doi: 10.3389/fcvm.2021.764009.

## **Danksagung**

Hiermit möchte ich allen beteiligten Personen danken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt und motiviert haben.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Felix Berger, Direktor der Klinik für Angeborene Herzfehler – Kinderkardiologie, möchte ich mich sehr für die Möglichkeit bedanken, an seiner Klinik als Promovendin tätig sein zu dürfen.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. med. Stanislav Ovrutskiy für die fachliche Unterstützung und konstruktiven Hinweise bei der Fertigstellung dieser Dissertation.

Mein ausdrücklicher Dank gilt weiterhin Frau Dr. med. Anastasia Schleiger für die hervorragende Betreuung, das mühevolle Korrekturlesen und die zahlreichen Ratschläge während der gesamten Zusammenarbeit.

Dem ganzen Team der KiKa-Ambulanz des Deutschen Herzzentrums der Charité und der Chirurgischen Hochschulambulanz Campus Virchow-Klinikum danke ich sehr, ohne deren Mithilfe die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Patienten bedanken, die sich zur Teilnahme an der Studie bereit erklärt haben.

Zugleich danke ich Katharina Wansch für das Korrekturlesen.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern, Idaliya Pileckienė und Vytautas Pileckas, die mir das Studium ermöglicht und mich stets unterstützt haben. Außerdem danke ich meinen Geschwistern und Freunden für ihre Ermutigungen.

# Bescheinigung Statistik



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBiKE)

Direktor: Prof. Dr. Frank Konietschke

Postanschrift:  
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin  
Besucheranschrift:  
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171  
frank.konietschke@charite.de  
<https://biometrie.charite.de/>



**Name, Vorname:** Pileckaite, Marta  
**Emailadresse:** [REDACTED]  
**Matrikelnummer:** [REDACTED]  
**PromotionsbetreuerIn:** Prof. Dr. med. Stanislav Ovrutskiy  
**Promotionsinstitution / Klinik:** Klinik für Angeborene Herzfehler - Kinderkardiologie

## Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass *Frau Marta Pileckaite* innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie (iBiKE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- *Termin 1: 20.01.2023*
- *Termin 2: 22.09.2023*

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Anpassung der Interpretation von Hypothesentests
- Interpretation von deskriptiven p-Werten

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: \_\_\_\_\_ Name des Beraters/ der Beraterin: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift BeraterIn, Institutsstempel

