

Aus dem
CharitéCentrum 8 für Chirurgische Medizin
Chirurgische Klinik
Campus Charité Mitte | Campus Virchow-Klinikum
Direktor: Univ.-Professor Dr. med. Johann Pratschke

Habilitationsschrift

Untersuchung leberfunktionsorientierter Behandlungsstrategien in der onkologischen Leberchirurgie und Transplantationsmedizin

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Experimentelle Chirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Maximilian Jara
geboren in Innsbruck, Österreich

Eingereicht:	März 2019
Dekan:	Prof. Dr. Axel Radlach Pries
1. Gutachter:	Prof. Dr. Hans J. Schlitt, Regensburg
2. Gutachter:	Priv.- Doz. Dr. Rupert Oberhuber, Innsbruck

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGEN

1. EINLEITUNG	3
1.1. Leberfunktion	3
1.2. Entwicklung des enzymatischen ¹³ C-Leberfunktionstests LiMAx®	4
1.2.1. Methodische Grundlage dynamischer Leberfunktionstests	4
1.2.2. Konzeptionelle Ausarbeitung des LiMAx® Testprotokolls	5
1.3. Eigene Vorarbeiten und aktuelle Studienlage	7
1.3.1. Experimentelle und klinische Validierung der Testmethodik	8
1.3.2. Einsatzbereich Leber- und Transplantationschirurgie	9
1.3.3. Einsatzbereich Hepatologie	11
1.4. Zielsetzungen	13
2. EIGENE ARBEITEN	14
2.1. Einfluss von Oxaliplatin-basierter Chemotherapie auf die aktuelle Leberfunktion	14
2.2. Verbesserung der Diagnostik von Chemotherapie-assoziiertem Leberschaden vor Resektion von kolorektalen Lebermetastasen	25
2.3. Berücksichtigung der Leberfunktion im Rahmen der ALPPS Prozedur	35
2.4. Prognose des akuten Leberversagens anhand der aktuellen Leberfunktion	46
2.5. Prognoseeinschätzung von Patienten mit chronischem Leberversagen anhand der aktuellen Leberfunktion	54
2.6. Evaluation eines leberfunktionsbasierten Prognosemodells zur Einschätzung des Kurzzeitüberlebens von Patienten mit Leberzirrhose	63
3. DISKUSSION	73
4. ZUSAMMENFASSUNG	79
5. LITERATURANGABEN	81
DANKSAGUNG	88
ERKLÄRUNG GEMÄSS § 4 ABS. 3 (K) HABOMED CHARITÉ	89

ABKÜRZUNGEN

ALPPS	Associating Liver Partition with Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy
¹² C	Kohlenstoff
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CYP 1A2	Cytochrom P 450 1A2 Isoenzym
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
ICG	Indocyaningrün
LiMAx [®]	Maximal Liver Function Capacity based on ¹³ C-methacetin (MA) kinetics
MEGX	Monoethylglycinoxylidid
MELD	Model for End Stage Liver Disease
PVE	Portalvenenembolisation
SOS	Sinusoidales Obstruktionssyndrom

1. EINLEITUNG

1.1. Leberfunktion

Das Ausmaß der Aufgaben, welche das Organ Leber in unserem menschlichen Organismus ausübt, wird häufig erst begreiflich, wenn es zu einer Einschränkung der Leberfunktion kommt. Die Leber ist das zentrale Organ des Stoffwechsels und somit für die Regulation des Säure-Basen-Haushaltes und der Energieumwandlung und Energieversorgung von zentraler Bedeutung. Zudem erfüllt sie durch die biliäre Ausscheidung von an Protein gebundenen Toxinen eine wichtige Entgiftungsfunktion und produziert mit der Galle einen für die Verdauung wichtigen Körpersaft. Intrinsische oder extrinsische Faktoren können zu akuter oder chronischer Leberschädigung führen und dieses für Säugetiere und Menschen so wichtige Organ in seiner Funktion einschränken.

Medizinisch gesehen wäre es wünschenswert, den aktuellen funktionellen Zustand der Leber unkompliziert objektivieren zu können. Zum einen, um eine bestehende und vielleicht noch nicht ausgeprägte Lebererkrankung frühzeitig zu erkennen und präventive Maßnahmen zu ergreifen, zum anderen um nach erfolgter Therapie auch eine mögliche Besserung der Organfunktion zu überwachen. Weiterhin ist im Zeitalter der modernen Medizin eine auf den Patienten zugeschnittene medikamentöse Behandlung anzustreben. Bei funktionell eingeschränkter Leberfunktion könnte beispielsweise eine Dosisanpassung von Medikamenten durch eine akkurate Einschätzung der metabolischen Leistung der Leber ermöglicht werden. So könnten unnötig hohe Wirkspiegel umgangen und deren Nebenwirkungsprofil verringert werden.

Allerdings sind auf Blutwerten basierende Tests größtenteils lediglich zur statischen Einschätzung der Leberfunktion zu verwenden. Sie spiegeln zwar funktionelle Eigenschaften der Leberzellen wider (der Serum-Bilirubin-Spiegel die Exkretionsleistung; der Serum-Albumin-Spiegel sowie Parameter der Gerinnung die Synthesefunktion der Leber; Alkalische Phosphatase und GGT finden als Cholestaseparameter Anwendung), können jedoch milde Leberveränderungen meist nur ungenügend aufzeigen. Weiterhin sind die Transaminasen - allgemein bekannt als Leberwerte - formell nicht Leberfunktionsparameter, sondern vielmehr Marker von Lebergewebsschaden (1). Weiterhin kann anhand bildgebender Diagnostik die Qualität des Lebergewebes möglichst schonend beurteilt werden. Allerdings bleibt die Leberpunktion mit konsekutiver histologischer Aufarbeitung die zuverlässigste Methode um strukturelle Leberzellveränderungen zu identifizieren (2).

All diese Methoden stellen wichtige einzelne Faktoren dar, um den Zustand des Lebergewebes möglichst ganzheitlich zu erfassen. Jedoch können sie nur unzureichend objektive Informationen hinsichtlich der tatsächlichen aktuellen Organfunktion geben.

1.2. Entwicklung des enzymatischen ¹³C-Leberfunktionstests LiMax®

1.2.1. Methodische Grundlagen dynamischer Leberfunktionstests

Dynamische Leberfunktionstests sollen die tatsächliche metabolische Funktion der Leber besser objektiveren, um so die bekannten klinischen Limitationen der laborparametrisch basierten Methoden zu umgehen (3, 4). So wurden unterschiedliche Testverfahren, basierend auf der hepatischen Clearance oder auf einer hepatischen metabolischen Verstoffwechslung von Testsubstraten, entwickelt.

Ein weitgebräuchlicher, auf der Clearance von Indocyaningrün (ICG) basierender Test wurde auch wissenschaftlich ausgiebig untersucht. Der Farbstoff wird nach intravenöser Applikation und proteingebundenem Transport im Serum von den Leberzellen aufgenommen und konsekutiv nahezu unverändert durch einen energieabhängigen Transporter in der Gallenflüssigkeit eliminiert (5). So reduziert sich die im Blut messbare Konzentration abhängig von der Leberfunktion stetig, da ICG nicht renal ausgeschieden, nicht metabolisiert und auch nicht im Rahmen des enterohepatischen Kreislaufs wieder aus der Gallenflüssigkeit in den Körper aufgenommen wird (6). In Anbetracht dieser günstigen Eigenschaften findet ICG speziell in Japan im klinischen und experimentellen Setting Anwendung, um die hepatische Funktion zu bestimmen (7). Unter Berücksichtigung der aktuellen Hämoglobinkonzentration des Blutes des Patienten ist es möglich, mittels eines Fingerclips spektrophotometrisch auf die absolute ICG-Konzentration im Blut zu schließen und so die Verschwinderate (der hepatischen Clearance entsprechend) pro Zeiteinheit zu detektieren. Da wie angesprochen keine hepatische Metabolisierung von ICG erfolgt, kann anhand dieses Tests eine „funktionelle“ Einschätzung der Leberfunktion nur mit gewissen Vorbehalten erfolgen (8, 9).

Daneben wurden unterschiedliche metabolische Tests, wie der Monoethylglycinxylylidid (MEGX) Test, der sich des durch den hepatischen Enzymkomplex Zytochrom P 450 erfolgten Umbau von Lidocain zu MEGX bedient, entwickelt (10, 11). Allerdings traten in den letzten Jahren vermehrt ¹³C-basierte Atemtests in den Vordergrund (12, 13). Das Konzept der ¹³C-Atemmessung ist weithin bekannt und wurde anfänglich für den Nachweis residueller Bakterien im Gastrointestinaltrakt verwendet (14, 15). Es bedient sich der nicht-radioaktiven und vor allem stabilen Eigenschaften des ¹³C, als natürlich vorkommendes Isotop von ¹²C (Kohlenstoff).

¹³C-Leberfunktionstests bedienen sich unterschiedlicher Kohlenstoff-isotopenmarkierter Agens (¹³C-Aminophenazon, ¹³C-Caprylsäure), die eine hepatozyten-spezifische Metabolisierung unterlaufen (16, 17). In vitro werden ¹²C-Gruppen durch ¹³C-Gruppen in der molekularen Struktur des Substrats ersetzt. Nach Applikation und leberspezifischer Metabolisierung im Organismus - für eine hohe leberspezifische Aussage sollte die Metabolisierung der einzige geschwindigkeitsbestimmende Schritt im Stoffwechselmodell sein - wird das Agens in ein Nebenprodukt und ¹³CO₂ verstoffwechselt. Abhängig vom verwendeten Substrat und Zielenzym liegt dieser im Zytosol, Mitochondrium oder in den Microsomen der Leberzellen (12, 18, 19). Somit liegt einem sprunghaften Anstieg der ¹³CO₂ Konzentration und einer konsekutiven Abatmung eine hohe enzymatische Kapazität des in den Hepatozyten befindlichen geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes zu Grunde. In diesem Kontext ist die Messgenauigkeit der verwendeten Analysegeräte von großer Bedeutung, da ¹³CO₂ trotz Metabolisierung in etwa um den Faktor 100 geringerer Konzentration in der Ausatemluft vorliegt.

Trotz der Entwicklung zahlreicher Testmethoden und Durchführung wissenschaftlicher Studien konnte bis vor kurzem keiner der verwendeten Leberfunktionstests den Übergang vom experimentellen Stadium zu einer breiten klinischen Anwendung meistern (20).

1.2.2. Konzeptionelle Ausarbeitung des LiMAX[®] Testprotokolls

So galt es für die Entwicklung eines neuartigen Messkonzeptes die Vorteile und bis dato vorliegenden Nachteile von ¹³C-basierten Leberfunktionstests zu berücksichtigen (21).

Der große konzeptionelle Vorteil der ¹³C-basierten Atemtests besteht in der nicht-invasiven Messung des anfallenden Abbauprodukts in der Atemluft des Patienten. So kann auf repetitive Blutentnahmen - wie vergleichsweise beim MEGX Test - verzichtet werden. Zudem bestünde mit einem geeigneten Messgerät die Möglichkeit einer Echtzeit-Analyse der Messresultate.

Allerdings erfolgte, wie oben beschrieben, historisch bedingt bisher die Applikation des Substrats vorwiegend in Form einer oralen Emulsion. Das Substrat muss also initial enteral resorbiert, um danach hepatisch metabolisiert werden zu können. Somit ist die hepatische Metabolisierung von der vorherigen intestinalen Aufnahme (Resorptionsmenge, Resorptionsgeschwindigkeit) des Substrates abhängig.

Um diesen zusätzlichen Schritt in der Reaktionskinetik zu umgehen, sollte bei der Auswahl des geeigneten Substrates auch dessen möglicher Applikationsweg in Form einer intravenösen Injektion berücksichtigt werden. Methacetin, ein Aminophenol, ist seit langem aufgrund seiner analgetischen Wirkung bekannt. Seine schmerzlindernde Wirkung bedingt das bei dessen Metabolisierung anfallende Nebenprodukt Paracetamol. Dies geschieht leberspezifisch und im Vergleich zu anderen verwendeten Substraten primär mittels Cytochrom P450 1A2- (CYP 1A2)

spezifischer, langsamer und schneller Demethylierung. Zudem scheint diese Klasse des Enzymkomplexes über den gesamten Leberzellazinus gleichmäßig verteilt (22). Diese Faktoren bilden die Basis, um von der vorherrschenden Reaktionskinetik auf die enzymatische Leberfunktion zu schließen. Das nun neben Paracetamol angefallene ^{13}C -Formaldehyd wird unmittelbar zu Methansäure und weiter zu $^{13}\text{CO}_2$ oxidiert (23).

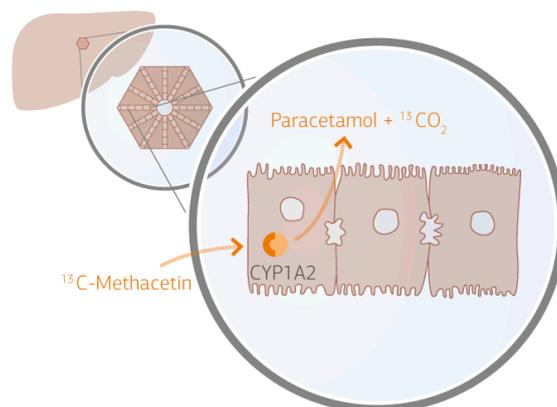


Abbildung 1: Metabolisierung von ^{13}C -Methacetin auf zellulärer Ebene (Hepatozyt)

(Abbildung mit Genehmigung von Humedics GmbH - <https://www.humedics.eu/de/>)

Die medizinische Verwendung von ^{13}C -Methacetin zur Evaluation von Leberschäden ist seit nunmehr über 30 Jahren bekannt (24). Im Gegensatz zu radioaktiven Metaboliten oder anderen verwendeten Substraten zeigt sich eine toxische Wirkung im Tiermodell nur bei sehr hoher Dosierung (25). Die mittlere letale Dosis rangiert zwischen 2.000mg/kg und 3.000mg/kg Körpergewicht bei beschriebener mittlerer letaler Dosis von 338mg/kg Körpergewicht für Paracetamol. Somit ist die Verwendung von ^{13}C -Methacetin in den aktuell gebräuchlichen Dosierungen bis 5mg/kg Körpergewicht als gut verträglich einzuschätzen.

Die Arbeitsgruppe um Professor Martin Stockmann identifizierte ^{13}C -Methacetin als geeignetes Substrat. Eine Weiterentwicklung der galenischen Formel führte von der bekannten oralen Emulsion zur Etablierung einer intravenös zu verabreichenden Lösung. Dies primär, um den Schritt der enteralen Resorption zu umgehen und so, durch sofortige Substratanflutung, die Metabolisierung durch das Cytochrom P450 1A2 Enzym zum alleinigen relevanten Schritt im Stoffwechselprozess zu machen.

In Zusammenarbeit mit Professor Karsten Heyne aus dem Fachbereich Physik der Freien Universität Berlin wurde die Messmethodik, welche initial aus der Sammlung von Atemgasbeuteln zu unterschiedlichen Messzeitpunkten bestand, weiterentwickelt. So konnte mittels eines

spektroskopischen Gerätes (Infrarotabsorptionsspektroskopie mit Quadranten-Kaskaden-Laser) eine kontinuierliche Messung der Ausatemluft ermöglicht werden. So kann die abgeatmete Menge an $^{13}\text{CO}_2$ pro Zeiteinheit in real-time analysiert und so die Umsatzrate des Enzyms in Echtzeit wiedergegeben werden (26). Anhand der analysierten $^{13}\text{CO}_2$ - $^{12}\text{CO}_2$ Ratio vor Testbeginn und am Maximalzeitpunkt der enzymatischen Umsatzrate nach Injektion von ^{13}C -Methacetin und unter Berücksichtigung der individuellen CO_2 -Produktionsrate sowie des Körpergewichts des Patienten, kann der LiMAx[®] Wert und somit die individuelle maximale enzymatische Kapazität der Leber (entsprechend der maximalen Umsatzrate von ^{13}C -Methacetin durch Cytochrom P450 1A2 Isoenzym) wiedergegeben werden (27). Die eingebrachte Software berechnet nach Testbeendigung umgehend den aktuellen LiMAx[®] Wert.



Abbildung 2: Testaufbau und Kinetik der Messkurven in Abhängigkeit der bestehenden Leberfunktion

(Abbildung mit Genehmigung von Humedics GmbH - <https://www.humedics.eu/de/>)

1.3. Eigene Vorarbeiten und aktuelle Studienlage

Nach Etablierung des Messprotokolls und Weiterentwicklung des Messgerätes, machte man sich daran, die Wertigkeit des LiMAx[®] in der Leberchirurgie und Lebertransplantation zu evaluieren (27-30). Für diesen Ansatz war der medizinische Hintergrund der Entwickler um Professor Martin Stockmann - allesamt Mitarbeiter einer chirurgischen Klinik mit Transplantationsschwerpunkt - ursächlich. Nach erfolgsversprechenden Ergebnissen zur Objektivierung des Risikos eines postoperativen Leberversagens beziehungsweise Organversagens nach Lebertransplantation, erfolgte durch den Autor dieser Habilitationsschrift im Rahmen seiner Promotionsarbeit eine systematische Aufarbeitung hinsichtlich der klinischen Anwendbarkeit der Testmethodik (31). An dieser Stelle soll nun ein systematischer Überblick der aktuellen Studienlage zum LiMAx[®] gegeben werden.

1.3.1. Translationale Validierung der Testmethodik

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe um Professor Hermann-Georg Holzhütter (Institut für Biochemie - Charité - Universitätsmedizin Berlin) erfolgte die weitere Objektivierung extrahepatischer Einflussfaktoren auf die Testresultate. Eine initiale Arbeit maß der Teilnahme des $^{13}\text{CO}_2$ im körpereigenen Säure-Basenhaushalt einen maßgeblichen Einfluss auf die Messresultate bei. Diese Speicherung im Bicarbonat-Puffersystem resultiert in einer potentiellen Veränderung der Abatmungskinetik (32). Im Wissen um dieses Multi-Kompartiment-Modell konnte man kürzlich anhand von mehr als 10.000 retrospektiven Messdaten die typische Abatmungskinetik von $^{13}\text{CO}_2$, sowie Faktoren hinsichtlich einer Messstabilität und Messdauerverkürzung herausarbeiten (33).

Kontrollbehördlich ist zum einen eine klinische Zulassung des intravenösen Testsubstrats und zum anderen - basierend auf Richtlinien - eine systematische Evaluation für die klinische Evaluation diagnostischer Agens notwendig. Anhand einer kürzlich durchgeführten, multizentrischen randomisierten Studie konnte nicht nur der Vorteil eines perioperativen Einsatzes des LiMAX[®] in der Leberchirurgie nachgewiesen werden, auch erfolgte im Rahmen dieser randomisiert kontrollierten Studie eine erfolgreiche Phase III Studie zur Sicherheit der intravenösen Injektion von ^{13}C -Methacetin (34). Zur methodischen Evaluation der Testmethodik wurde, einem vereinfachten Prinzip zur klinischen Evaluation folgend, die Wiederholungsgenauigkeit des Tests bei gesunden Probanden und Patienten evaluiert (35, 36). Anhand von Untersuchungen an gesunden Probanden wurde der einseitige Normwert von $315\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (5% Perzentile im gesunden Kollektiv) ermittelt (35). Zudem konnte die Anwendbarkeit des Tests zur Einschätzung der Krankheitsschwere von Patienten mit chronischer Lebererkrankung, sowie die diagnostische Wertigkeit zum nichtinvasiven Nachweis struktureller Veränderungen des Leberparenchyms gezeigt werden (31, 37, 38).

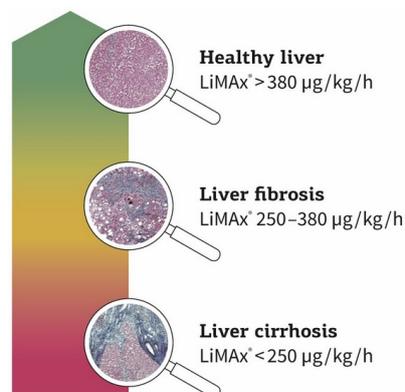


Abbildung 3: Korrelation von LiMAX[®] Resultaten mit bestehenden Leberzellveränderungen
(Abbildung mit Genehmigung von Humedics GmbH - <https://www.humedics.eu/de/>)

1.3.2. Einsatzbereich Leber- und Transplantationschirurgie

Die schrittweise Evaluation für den Einsatz in der Leberchirurgie erfolgte in verschiedenen Kohortenstudien. In einer ersten Untersuchung wurde der primäre Endpunkt einer validen Einschätzung der Leberfunktion anhand des LiMAX[®] untersucht. Bei fehlenden ausreichend evaluierten alternativen Verfahren zur Bestimmung der enzymatischen Leberfunktion, wurde hierfür der postoperative Ist-Zustand nach Leberoperation (prozentuales Volumen der Restleber und prozentualer residueller LiMAX[®]) verglichen. Beide Parameter zeigten in 23 Fällen eine Korrelation von 94%. Um die Leberspezifität des Tests nachzuweisen, wurde im Rahmen einer Lebertransplantation das Testsubstrat injiziert. In diesem Fall kam es zu keiner relevanten Metabolisierung des Agens während der anhepatischen Phase der Lebertransplantation. Mit begonnener Reperfusion zeigte sich ein sprunghafter Anstieg des abgeatmeten ¹³CO₂ (27). Neben dem Nachweis der validen Einschätzung einer Organfunktion sowie Organspezifität der Testmethodik sollte die diagnostische Wertigkeit in einer validen Vorhersage der zukünftigen Organfunktion nach Leberoperation gipfeln. Dies mit der Absicht, eine individuelle Operationsplanung im Sinne der Evaluation des maximal verträglich operativen Ausmaßes zu ermöglichen. Hierfür wurden im Rahmen von onkologischen Leberresektionen neben prä- und postoperativen Leberfunktionsmessungen auch Volumenanalysen aktueller schnittbildgebender Untersuchungen durch Radiologie und Chirurgie durchgeführt. Das zu erwartende relative Restlebervolumen konnte berechnet werden und in weiterer Folge die zu erwartende Restleberfunktion (28). 40% der Patienten mit einem am ersten postoperativen Tag gemessenen LiMAX[®] von <80µg/kg/h verstarben im Krankenhaus. In weiterer Folge konnte aufgrund des postoperativen Verlaufs dieser Patienten ein leberfunktionsorientierter Behandlungsalgorithmus vorgeschlagen werden, welcher im weiteren Verlauf noch konzeptionell verfeinert wurde.

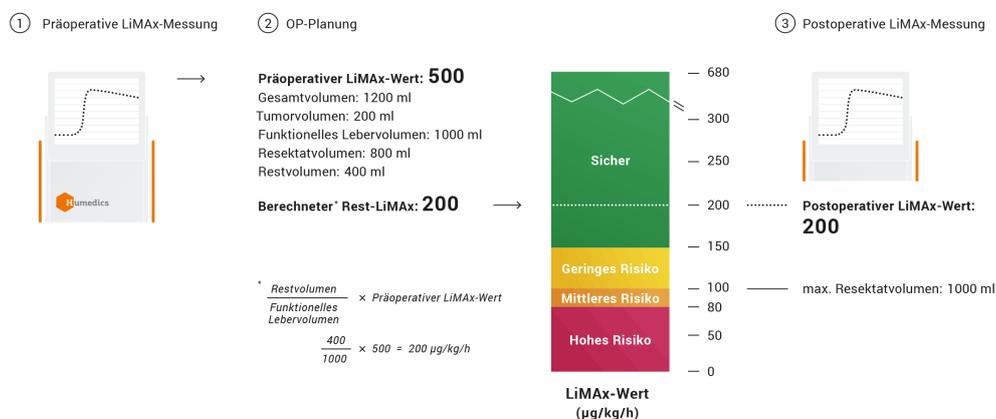


Abbildung 4: Schematische Darstellung der leberfunktionsorientierten Planung einer Leberoperation anhand eines Fallbeispiels

(Abbildung mit Genehmigung von Humedics GmbH - <https://www.humedics.eu/de/>)

Nachdem dieses Konzept in die klinische Routine eines der größten leberchirurgischen Zentren Europas etabliert wurde, konnten dessen Auswirkungen auf den klinischen Alltag evaluiert werden. In einer Untersuchung von 1.170 leberchirurgischen Fällen schien die Einführung des Konzepts eine signifikante Reduktion der Rate an postoperativem Leberversagen und postoperativer Sterblichkeit ermöglicht zu haben (39).

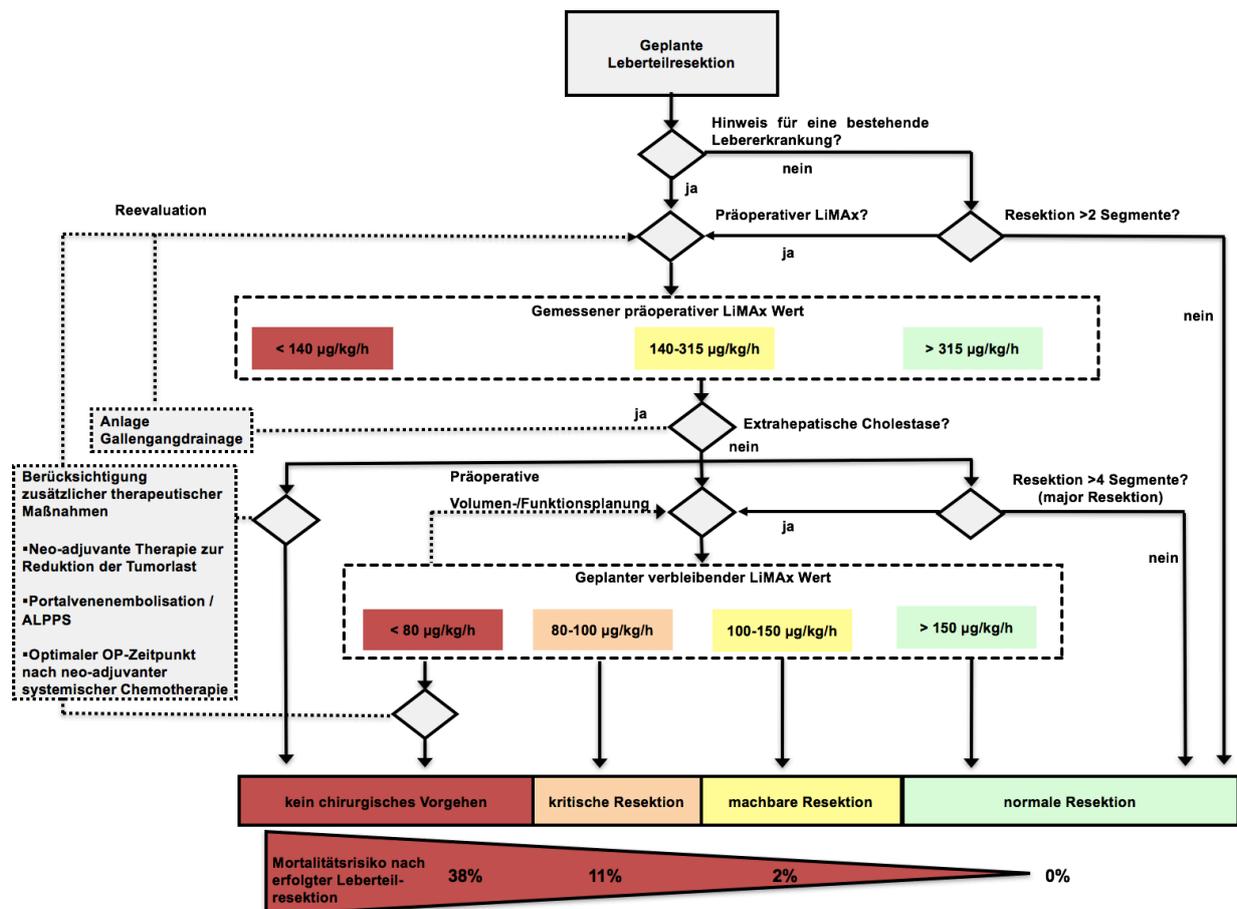


Abbildung 5: Leberfunktionsorientiertes Behandlungskonzept basierend auf dem Prinzip der Volumen-/Funktionsplanung (40)

(Abbildung mit Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG)

Der genannte leberfunktionsorientierte Behandlungsalgorithmus berücksichtigt einen möglichen Einfluss präoperativer Konditionierungsmaßnahmen auf die aktuelle Leberfunktion und Operabilität der Patienten. Speziell im Fall von kolorektaler Lebermetastasierung ist eine präoperative Chemotherapie zu empfehlen. So kann selbst ausgeprägte hepatische Tumormast reduziert werden (13). Allerdings scheinen Oxaliplatin-haltige Chemotherapie-Regime zu

strukturellen Veränderungen des Leberparenchyms zu führen und können so die aktuelle Leberfunktion einschränken (14). Auch wurde bis dato in keinem größeren Kollektiv der Verlauf der Organfunktion im Rahmen der modernen ALPPS (Associating Liver Partition with Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy) Prozedur beschrieben. Auf Basis der Erkenntnisse von Kollegen der Medizinischen Hochschule Hannover scheint die Testmethodik jedoch geeignet, um die Leberfunktion im Rahmen des komplexen Eingriffs beurteilen zu können (41). Lock et al. demonstrierten in ihrer Arbeit eindrücklich das funktionelle regenerative Potential der Leber nach Leberresektion und identifizierten Faktoren, welche sich hierauf negativ auswirken (42).

Um das Konzept der Volumen-/Funktionsplanung nun im Setting eines dualen chemotherapeutisch-chirurgischen Ansatzes zu analysieren, wurde der Ansatz zur Überwachung der Leberfunktion um folgende vorab publizierte Teilergebnisse dieser Schrift erweitert (43-45).

Die Ergebnisse im Feld der Leberchirurgie legten die Anwendbarkeit des LiMAx[®] zur Einschätzung der Organfunktion nach Lebertransplantation nahe. Auf Basis von Untersuchungen konnte eine neuartige leberfunktionsorientierte Graduierung der Organfunktion nach Lebertransplantation erarbeitet werden (29, 30). Lock et al. proklamierten eine frühe leberfunktionsorientierte Einschätzung der Transplantatfunktion (initiale Nichtfunktion LiMAx[®] <60µg/kg/h sowie initial schlechte Transplantatfunktion LiMAx[®] 60-120µg/kg/h), um so individuell Vorhersagen über die Erholung des Organs am ersten Tag nach Lebertransplantation treffen zu können.

Der Einsatz der Testmethodik für weitere Fachbereiche der Medizin sollte nicht nur auf die postoperative Einschätzung der Organqualität beschränkt bleiben.

1.3.3. Einsatzbereich Hepatologie

Durch ihre Arbeit konnten Kaffarnik und Kollegen den Einfluss einer imponierenden enzymatischen Leberfunktionseinschränkung auf den Pathomechanismus und das Überleben von Patienten mit septischem Krankheitsbild herausarbeiten (46, 47). Patienten mit einem hochgradigen Versterberisiko konnten anhand des LiMAx[®] zuverlässiger als mit anderen etablierten Tests identifiziert werden. Ferner war es möglich, ein bestehendes septisches Leberversagen auf diese Weise sensitiver zu diagnostizieren.

In Zeiten der patientenzentrierten Medizin gewinnt das therapeutische Drug-Monitoring an Bedeutung. Bei kritisch kranken Patienten zeigt sich häufig durch eingeschränkte Organfunktion eine veränderte Pharmakokinetik und so sind Dosierempfehlungen unterschiedlicher Medikamente nur unzureichend anwendbar; werden Dosis-Findungsstudien doch primär an gesunden Probanden durchgeführt (48, 49). Sowohl in einem Kollektiv von Patienten nach

Lebertransplantation als auch in einem Kollektiv von Patienten im Leberversagen konnte die Variabilität der jeweiligen Pharmakokinetik der Medikamenten-Clearance anhand der verbliebenen Leberfunktion erklärlich gemacht werden. So bedingte eine eingeschränkte Organfunktion einen erhöhten Serumspiegel der untersuchten Medikamente (50, 51). Speziell im Fall des Antibiotikums Linezolid sollten zukünftig in größeren Studien Dosierempfehlungen für ebensolche Patienten gefunden werden, um so eine toxische Belastung des Organismus mit unnötig hohen Dosen zu vermeiden.

Auch könnte der LiMAX[®] im Feld des „Tissue Engineerings“ Anwendung finden. Eine Leberzelltransplantation stellt ein anerkanntes Verfahren zur Therapie von angeborenen Stoffwechseldefekten dar (52). Allerdings limitieren die formalen rechtlichen Anforderungen und die immer geringere Organspendebereitschaft in Deutschland den Zugang zu Spenderzellen; dürfen diese doch nur von hirntoten Spendern nach erfolgter Zustimmung oder im Rahmen von Lebendspenden entnommen werden. So könnten im Labor generierte Leberzellen perspektivisch eine mögliche Option darstellen, den Organ- oder zumindest Leberzellmangel zu verringern (53). Um nur die qualitativ hochwertigsten Leberzellen zur Vermehrung im Labor zu verwenden, wäre eine Evaluation des „Isolationspotenzials“ sinnvoll. So konnte in einer Untersuchung der prädiktive Wert des in vivo gemessenen LiMAX[®] als Qualitätskriterium für die Isolation von primären Hepatozyten im experimentellen Setting herausgearbeitet werden (54).

1.4. Zielsetzungen

Nachdem nun vorangegangene Pilotstudien die Anwendbarkeit und Wertigkeit des LiMax[®] für eine postoperative Funktionsüberwachung nach Leberresektion und Lebertransplantation gezeigt hatten, sollte nun das klinische Potential des LiMax[®] funktionelle Lebergewebsveränderung zu detektieren und hieraus Implikationen für die Patientenbehandlung vor der Durchführung operativer Konzepte evaluiert werden.

Um den Ansatz eines leberfunktionsorientierten Behandlungskonzepts vor Operation von kolorektalen Lebermetastasen auszuweiten, sollte erstmalig eine Objektivierung des funktionellen Aspekts einer Chemotherapie-assoziierten Leberschädigung mittels LiMax[®] erfolgen.

Häufig ermöglicht erst die Durchführung einer präoperativen Chemotherapie die Verkleinerung von kolorektalen Lebermetastasen und so ein späteres chirurgisches Vorgehen. Für derartige Fälle stellt die ALPPS Prozedur ein modernes, jedoch radikales operatives Konzept dar. Auch hier sollte der Verlauf der Leberfunktion im Rahmen dieses zweizeitigen Vorgehens beschrieben werden. Das bereits publizierte Konzept eines leberfunktionsorientierten Behandlungsansatzes sollte so um die Anwendung bei ALPPS erweitert werden.

Auf Basis dieser Untersuchungen soll für Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen und erfolgter präoperativer Chemotherapie eine Verbesserung der chirurgischen Strategie im Sinne der Wahl des operativen Vorgehens und des Zeitpunkts der Operation möglich gemacht werden.

Zudem erscheint die Erweiterung des Einsatzes des LiMax[®] auf Fragestellungen der Hepatologie und Transplantationsmedizin sinnvoll. Da die klinische Anwendbarkeit der Methodik bei Patienten mit Leberzirrhose und deren Potential zur Diagnose von strukturellen Lebergewebsveränderungen nachgewiesen werden konnte, erscheint es nun sinnvoll, geltende Prognose-Modelle um den Faktor der - mittels LiMax[®] gemessenen - aktuellen enzymatischen Leberfunktion zu erweitern (31, 37, 38).

So soll nun ein ganzheitliches, die individuelle Prognose von Patienten mit akuten und chronischen Leberversagen berücksichtigendes Konzept erarbeitet werden.

In dieser kumulativen Habilitationsschrift sollen die in folgenden Originalarbeiten vorab publizierten Teilergebnisse subsummiert werden (36, 43-45, 55, 56).

2. EIGENE ARBEITEN

2.1. Einfluss von Oxaliplatin-basierter Chemotherapie auf die aktuelle Leberfunktion (43)

M. Jara*, J. Bednarsch, M. Malinowski, J. Pratschke, M. Stockmann. Effects of oxaliplatin-based chemotherapy on liver function - an analysis of impact and functional recovery using the LiMAx test. Langenbecks Arch Surg. 2016 Feb;401(1):33-41.

Web-link to publication: <https://doi.org/10.1007/s00423-015-1352-5>

*Geteilte Erstautorenschaft

Der duale Ansatz von neoadjuvanter Chemotherapie und konsekutiver Leberteilresektion ermöglicht eine Verbesserung des Langzeitüberlebens von Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen (57, 58). Allerdings gelten speziell Oxaliplatin-basierte chemotherapeutische Regime als leberschädigend (59). Erhöhte postoperative Morbidität scheint mit der Anzahl der verabreichten Zyklen Chemotherapie, sowie mit der Länge des chemotherapiefreien Intervalls vor Leberteilresektion assoziiert zu sein (60-62). Konzeptionell ist es wünschenswert, den Grad der Leberschädigung durch Chemotherapie für jeden Patienten individuell zu objektivieren und hierauf basierend das Regime anpassen zu können.

Nach Beendigung der Oxaliplatin-basierten Chemotherapie zeigte sich der LiMAx[®] der betroffenen Patienten um im Mittel 73% geringer als der gemessene Wert vor Beginn der Chemotherapie. Lediglich 70% der Patienten zeigten eine normwertige Leberfunktion. Im Verlauf nach Beendigung der Chemotherapie schien sich die Leberfunktion sequentiell zu erholen. So zeigte sich 4 Wochen nach Beendigung der Chemotherapie nach wie vor ein signifikanter Unterschied zu vor Beginn der Chemotherapie gemessenen LiMAx[®] Werten, welcher jedoch nach 8 Wochen nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Konventionelle laborbasierte Lebersyntheseparameter spiegelten diese Veränderungen nicht wider.

Bei der Durchsicht der individuellen Verläufe der enzymatischen Leberfunktion nach erfolgter Chemotherapie zeigten einige Patienten eine vollständige Regeneration der Leberfunktion mit lediglich geringem Abfall des LiMAx[®] (<10%) nach Beendigung. Andere zeigten eine hochgradige und dauerhafte Einschränkung der enzymatischen Leberfunktion (Abfall des LiMAx[®] >90% im Vergleich zu Werten vor Beginn) nach Beendigung der Chemotherapie. Die Anzahl der Chemotherapie-Zyklen oder die kumulative Oxaliplatinosis hatten in dieser Kohorte keinen Einfluss auf die relative Verringerung der enzymatischen Leberfunktion.

Zusammenfassend kann auf Basis dieser Ergebnisse eine Überwachung der funktionellen Leberregeneration bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen nach Chemotherapie

empfohlen werden. So könnte eine Planung der Leberoperation unter Berücksichtigung der optimalen Chemotherapiedosis sowie der optimalen Länge des chemotherapiefreien Intervalls patientenzentriert durchgeführt werden.

2.2. Verbesserung der Diagnostik von Chemotherapie-assoziiertem Leberschaden vor Resektion von kolorektalen Lebermetastasen (44)

Lock JF, 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. Ann Surg Oncol. 2017 Sep;24(9):2447-2455.

Web-link to publication: <https://doi.org/10.1245/s10434-017-5887-2>

Basierend auf den Ergebnissen der vorangegangenen systematischen Untersuchung galt es nun, den Einfluss einer Leberschädigung durch vorangegangene Oxaliplatin-basierte Chemotherapie auf das direkte perioperative Management von Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen in einem großen Kollektiv von Patienten zu evaluieren.

Nach vorangegangener Oxaliplatin-basierter Chemotherapie erschien die aktuelle enzymatische Leberfunktion von Patienten deutlich eingeschränkt, verglichen mit chemotherapie-naiven Patienten. Nur etwa die Hälfte wies normwertige LiMAx[®] Resultate auf. Ebenso konnten anhand intraoperativ gewonnener histopathologischer Proben bei Patienten mit präoperativ durchgemachter Chemotherapie häufiger Lebergewebsschäden - steatotische und fibrotische Veränderungen des Leberparenchyms - nachgewiesen werden. Konventionelle laborbasierte Lebertests spiegelten diese Veränderungen auf zellulärer Ebene nicht wider.

Ferner schien in der multivariaten Analyse das chemotherapiefreie Intervall und die Anzahl der mit Oxaliplatin-basierter Chemotherapie durchgeführten Zyklen ausschlaggebend für die Ausprägung der Leberfunktionseinschränkung zu sein. So erhöhte sich der Prozentsatz von Patienten mit eingeschränkten LiMAx[®] von 49% auf 67%, sofern weniger als 4 Wochen Abstand zwischen der letzten Chemotherapie-Gabe und der Leberfunktionsmessung lagen. Interessanterweise zeigte sich bei einer Absage der geplanten Operation eine Regeneration der Leberfunktion nach im Mittel 30 Tagen.

Zusammenfassend scheint Chemotherapie-assoziierte Leberschädigung nicht nur die Leber auf zellulärer Ebene zu schädigen, sondern auch die Funktion drastisch einzuschränken. Die Erkenntnisse dieser Studie bestätigen die Sinnhaftigkeit eines leberfunktionsorientierten Evaluationskonzeptes vor Leberteileresektion bei kolorektalen Lebermetastasen und stattgehabter Chemotherapie. Im Speziellen sollte bei zu geringer Leberfunktion eine Reevaluation zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen, um so genügend Zeit für eine funktionelle Regeneration zu ermöglichen. So kann das chemotherapiefreie Intervall so kurz wie möglich, jedoch auch so lang wie nötig gehalten werden.

2.3. Berücksichtigung der Leberfunktion im Rahmen der ALPPS Prozedur (45)

M. Stockmann, J. Bednarsch, M. Malinowski, E. Blüthner, J. Pratschke, D. Seehofer, **M. Jara**. Functional considerations in ALPPS - consequences for clinical management. HPB (Oxford). 2017 Nov;19(11):1016-1025.

Web-link to publication: <https://doi.org/10.1016/j.hpb.2017.07.010>

Bei ausgedehntem Tumorbefall der Leber kann mit Hilfe einer präoperativen Chemotherapie eine Reduktion der Tumormasse bei Patienten mit kolorektalen Lebermetastasen erwirkt werden (63). So können betroffene Patienten doch noch mittels radikaler operativer Konzepte in kurativer Absicht therapiert werden (64, 65). Eine moderne Option zur chirurgischen Behandlung von fortgeschrittener Lebermetastasierung stellt die ALPPS (Associating Liver Partition with Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy) Prozedur dar (66-68). Dieses zweizeitige Konzept ermöglicht Leberresektionen von extremem Ausmaß, gepaart mit maximaler onkologischer Radikalität. Da eine reduzierte postoperative Leberfunktion die Ausprägung eines postoperativen Leberversagens maßgeblich beeinflusst, erscheint eine Validierung des vorgeschlagenen Konzepts der leberfunktionsorientierten Volumen-/Funktionsplanung im Rahmen der ALPPS Prozedur sinnvoll und notwendig.

Nach durchgeführtem ersten Operationsschritt im Rahmen der ALPPS Prozedur (Durchtrennung des Leberparenchyms und Ligatur des zum tumortragenden Leberlappen zuführenden Pfortaderastes) zeigte sich der LiMAX[®] verglichen zu Werten vor der Operation um im Median 40% signifikant erniedrigt. Interessanterweise war auch in dieser Konstellation eine funktionelle Regeneration der enzymatischen Leberfunktion mit Erreichen präoperativer Werte nach im Median 7 Tagen gegeben. Gleichermaßen konnte ein signifikantes Wachstum des präoperativ berechneten residualen Lebervolumens innerhalb dieser 7 Tage um 70% beobachtet werden. Auch zeigte sich die Leberfunktion nach dem komplettierenden operativen Eingriff (Entfernung des erkrankten Leberteils aus dem Körper nach erfolgter Durchtrennung der zentralen Strukturen und Lebervenen) signifikant reduziert. Allerdings konnte anhand der durchgeführten Volumen-/Funktionsanalyse die tatsächlich verbliebene postoperative Leberfunktion genau vorhergesagt werden (exzellente Intra-Klassen-Korrelation von 0,91).

Zusammenfassend scheint das leberfunktionsorientierte Behandlungskonzept im Rahmen dieses radikalen operativen Konzepts möglich. Nach erfolgter Ligatur der Pfortader und Durchtrennung des Parenchyms scheint der Leberteil weiterhin funktionell relevant zu arbeiten.

2.4. Prognose des akuten Leberversagens anhand der aktuellen Leberfunktion (55)

J.F. Lock, A.N. Kotobi, M. Malinowski, A. Schulz, **M. Jara**, P. Neuhaus, M. Stockmann. Predicting the prognosis in acute liver failure: results from a retrospective pilot study using the LiMAx test. *Annals of Hepatology* 2013 Jul- Aug;12(4): 556-62.

Web-link to publication: [https://doi.org/10.1016/S1665-2681\(19\)31339-0](https://doi.org/10.1016/S1665-2681(19)31339-0)

Auch in der Transplantationsmedizin scheint ein funktionsorientierter Ansatz zur Einschätzung der Prognose von Patienten mit akuten und chronischen Lebererkrankungen sinnvoll.

Das Krankheitsbild des akuten Leberversagens zeigt eine hohe Mortalität. Mehr als jeder Zweite der in Deutschland jährlich etwa 500 Patienten verstirbt im Rahmen der Erkrankung (69). Auf Laborparametern basierende Modelle zur Prognoseabschätzung ermöglichen eine Listung zur Notfall-Lebertransplantation, um so den akut lebensbedrohten Patienten eine rettende Therapie anbieten zu können (70). Dennoch attestieren rezente Analysen diesen Modellen eine nur durchschnittliche diagnostische Güte zur Identifikation von Patienten im akuten Leberversagen, welche von einer Lebertransplantation profitieren (71). So korrelierten wir die mittels des LiMAx[®] gemessene enzymatische Leberfunktion mit dem Krankheitsverlauf von Patienten in diesem seltenen, jedoch fulminanten Krankheitsbild und evaluierten den LiMAx[®] als möglichen prognostischen Parameter.

Von 12 in die Studie eingeschlossenen Patienten zeigten 7 einen spontanen Heilungsverlauf und konnten nach supportiver Therapie aus dem Krankenhaus entlassen werden. In 2 Fällen wurde eine Notfall-Lebertransplantation durchgeführt und in 3 Fällen führte das Krankheitsbild ohne Therapieoption zum Versterben der Patienten. Teilte man den klinischen Verlauf retrospektiv in 2 Gruppen, „Patienten mit spontaner Erholung der Leberfunktion“ und „Patienten mit fehlender Erholung der Leberfunktion“, fiel auf, dass die allgemein gebräuchlichen King's College Criteria in beiden Gruppen etwa gleich häufig (14% versus 20% Erfüllung der Kriterien; $p=1,0$) einen fatalen Verlauf vorhersagten. Der im Rahmen der ersten Tage nach Aufnahme auf Intensivstation gemessene LiMAx[®] zeigte sich signifikant unterschiedlich in beiden Gruppen - mit deutlich niedrigeren Werten in der Gruppe der „Patienten mit fehlender Erholung der Leberfunktion“. In weiteren Analysen konnte ein Versterben oder eine Notwendigkeit einer Lebertransplantation anhand eines LiMAx[®] $<38\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (Normwert $>315\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) mit hoher Zuverlässigkeit (Sensitivität von 80% und Spezifität von 100%) vorhergesagt werden.

Zusammenfassend scheint die - mittels des LiMAx[®] Tests - gemessene enzymatische Leberfunktion eine zusätzliche Einschätzung des Regenerationspotentials der Organfunktion im Rahmen des akuten Leberversagens zu ermöglichen.

2.5. Prognoseeinschätzung von Patienten mit chronischem Leberversagen anhand der aktuellen Leberfunktion (56)

M. Jara, M. Malinowski, K. Lüttger, T. Reese, E. Schott, P. Neuhaus, M. Stockmann. Prognostic value of enzymatic liver function for the estimation of short-term survival of liver transplant candidates: A prospective study with the LiMAX test. *Transpl Int.* 2015 Jan;28 (1):52-8.

Web-link to publication: <https://doi.org/10.1111/tri.12441>

Auch im Krankheitsbild des chronischen Leberversagens ist die Anwendbarkeit und prognostische Wertigkeit des LiMAX[®] zu evaluieren.

Aktuell erfolgt die Einschätzung der Prognose von Patienten mit chronischer Lebererkrankung der Eurotransplant-Region anhand des Model for End-Stage Liver Disease (MELD) (72). So wird versucht anhand von Laborparametern möglichst objektiv die Krankheitsschwere des Patienten einzuschätzen und so die Allokation von Spenderlebern durchzuführen. Trotz des mittlerweile jahrelangen Gebrauchs dieses Konzepts zur Einschätzung der Wartelistenmortalität gibt es Verbesserungsvorschläge - beispielsweise die Erweiterung des Modells um individuelle prognostische Parameter - da gewisse Patientengruppen mehr profitieren als andere (73). Eine Vorarbeit des Autors bestätigt die Anwendbarkeit des LiMAX[®] zur Einschätzung der Krankheitsschwere von Patienten mit chronischer Lebererkrankung (37). So erschien es nun sinnvoll, die Wertigkeit des Tests hinsichtlich des Kurzzeitüberlebens von Patienten mit chronischer Lebererkrankung in einer Pilotstudie zu evaluieren.

Innerhalb des 6-monatigen Beobachtungszeitraums verstarben 10% der eingeschlossenen Patienten aufgrund ihrer Lebererkrankung, 20% qualifizierten sich für eine Lebertransplantation. Neben dem bekannten Multiparameter-Modell MELD waren nur der Serum-Bilirubin-Spiegel und LiMAX[®] von Patienten, die im Verlauf verstarben beziehungsweise überlebt hatten, am Tag des Studieneinschlusses signifikant unterschiedlich. Weitere Analysen attestierten dem LiMAX[®] eine hohe Zuverlässigkeit, jene Patienten zu identifizieren, welche nicht innerhalb des 6-monatigen Beobachtungszeitraums verstarben (negativ prädiktiver Wert 93%; positiv prädiktiver Wert 30%; Trennwert 55µg/kg/h) und so lag er gering über dem Wert des MELD (negativ prädiktiver Wert 91%; positiv prädiktiver Wert 35%; Trennwert 20 Punkte). In der Analyse der Überlebenskurven nach Kaplan-Meier zeigte sich die Rate des Patientenüberlebens mit LiMAX[®] >55µg/kg/h signifikant höher (p=0,003).

Zusammenfassend scheint anhand des Tests eine Prognoseeinschätzung des Kurzzeitüberlebens von Patienten mit chronischem Leberversagen möglich. Zudem liegt die

Schlussfolgerung nahe, dass anhand des aktuellen Testergebnisses zusätzliche Informationen hinsichtlich der Prognose der Erkrankung generiert werden können.

2.6. Evaluation eines leberfunktionsbasierten Prognosemodells zur Einschätzung des Kurzzeitüberlebens von Patienten mit Leberzirrhose (36)

M. Jara, T. Dziodzio, M. Malinowski, K. Lüttgert, R. Nikolov, P.V. Ritschl, R. Öllinger, J. Pratschke, M. Stockmann. Prospective assessment of liver function using an enzymatic liver function test to estimate short-term survival in patients with liver cirrhosis. *Dig Dis Sci.* 2019 Feb;64(2):576-584.
Web-link to publication: <https://doi.org/10.1007/s10620-018-5360-5>

In einem weiteren Schritt sollte nun der Stellenwert des LiMax[®] bestätigt und das diagnostische Potential eines leberfunktionsbasierten Prognosemodells zur Abschätzung des Mortalitätsrisikos von Patienten mit Leberzirrhose evaluiert werden.

Unter Anwendung eines multivariaten Cox proportional Hazard Models bestätigten sich der Serum-Kreatinin-Spiegel und LiMax[®] von Patienten am Tag des Studieneinschlusses als einzige singuläre prädiktive Parameter für das Patientenüberleben innerhalb von 3 Monaten. In diesem Modell waren initial alle singulären Komponenten des MELD (Serum-Bilirubin-Spiegel, INR, Serum-Kreatinin-Spiegel) sowie des Child-Pugh Score (Aszites-Grad, Enzephalopathie-Grad, Serum-Albuminspiegel) und der Serum-Natrium-Spiegel berücksichtigt worden.

Basierend auf diesen Ergebnissen entwickelten wir ein Vorhersagemodell, das lediglich auf zwei Parametern - Serum-Kreatinin-Spiegel und LiMax[®] - basiert. In einer vergleichenden Analyse hinsichtlich der Prognose des 3-Monatsüberlebens zeigte dieses Modell ähnliche diagnostische Güte (negativ prädiktiver Wert 98%; positiv prädiktiver Wert 26%) wie etablierte Modelle (MELD: negativ prädiktiver Wert 100%; positiv prädiktiver Wert 21%). Allerdings konnte eine angestrebte Verbesserung der Vorhersage durch diesen neuen Score nicht ermöglicht werden.

Zusammenfassend erschienen die aktuell bestehende Nierenfunktion sowie die anhand des LiMax[®] gemessene aktuelle enzymatische Leberfunktion als wertvolle Parameter zur Einschätzung des 3-Monatsüberlebens von Patienten mit Leberzirrhose. Allerdings bleibt der MELD Score das aussagekräftigste Modell, um das Mortalitätsrisiko dieser Patienten zu objektivieren.

3. DISKUSSION

Konzeptionell bestand in der Entwicklung des LiMAx[®] das Bestreben, eine Messung der aktuellen Leberfunktion durch eine Verbesserung und Aktualisierung des Testkonzepts zu ermöglichen (21). Obgleich in einer direkten Bestimmung der aktuellen Leberfunktion von Patienten ein zusätzlicher medizinischer Nutzen gesehen wird, fehlte es bis dato an einer weitverbreiteten und allgemeinakzeptierten Testmethodik (74-76). Vorwiegend die fehlende systematische Evaluation der unterschiedlichen Testmethoden und die Bedienung regulatorischer Richtlinien verhinderten einen Transfer in die klinische Routine (20). Nachdem die Testmethode klinisch evaluiert, das Messverfahren optimiert und die Testsubstanz zugelassen wurde, ist der Einsatz des LiMAx[®] für weitere klinische Felder - abgesehen von dem der Organüberwachung nach einer Leberoperation - zu evaluieren (26, 31, 34). Beispielsweise zeigt sich eine Identifizierung von grundsätzlich die Leberfunktion beeinflussenden Faktoren notwendig, um so den vorgeschlagenen leberfunktionsorientierten Behandlungsalgorithmus zu verfeinern (28).

Der vielfach diskutierte Einfluss des Patientenalters auf die Leberfunktion und hierdurch ein vermeintlich höheres Risiko von postoperativen Komplikationen beleuchteten Kollegen aus Maastricht und Aachen. In ihrem Kollektiv von 59 Patienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der aktuellen enzymatischen Leberfunktion prä operationem und ebenso kein signifikant höheres Auftreten von postoperativen Komplikationen zwischen Patienten unter und über 70 Jahren (77). Lock und Kollegen konnten Übergewicht als einen relevanten Faktor für die funktionelle Regenerationsfähigkeit nach einem leberchirurgischen Eingriff identifizieren. In einer Kohorte von insgesamt 85 Patienten zeigten 9 Patienten mit einem BMI >30kg/m² einen deutlich reduzierten Verlauf der funktionellen Leberregeneration. 12 Wochen nach dem Eingriff erreichte nur 1 von 12 Patienten einen normwertigen LiMAx[®] (42). Dieser Aspekt des Einflusses von Adipositas auf das Regenerationspotential der Leber wurde durch Kollegen aus Aachen aufgegriffen und in prospektiven Studien genauer beleuchtet. So konnte der negative Einfluss von Adipositas auf die aktuelle Organfunktion bestätigt werden, zum anderen auch das regenerative Potential der Leber nach erfolgreicher bariatrischer Operation von morbid-adipösen Patienten belegt werden (78, 79).

Im Kontext des empfohlenen leberfunktionsorientierten Behandlungsalgorithmus stellen die oben genannten Ergebnisse eine wichtige Bereicherung dar. Somit sollten Patienten nicht grundsätzlich aufgrund des Alters von einer Leberoperation ausgeschlossen werden. Vielmehr kann durch weitere diagnostische Schritte das individuelle Risiko objektiviert werden.

Mit dem Wissen um ein erhöhtes postoperatives Risiko nach erfolgter präoperativer Chemotherapie empfiehlt der Behandlungsbaum eine neuerliche Reevaluation der Operationsindikation vor Operation und die neuerliche Durchführung einer Volumen-/Funktionsplanung (80). Allerdings war bis zu diesem Zeitpunkt eine systematische Untersuchung der Auswirkung von Chemotherapie-assoziiertes Leberschädigung auf die funktionellen Eigenschaften des Organs ausstehend. Die dieser Schrift zugrunde liegenden, vorab publizierten Teilergebnisse belegen erstmals den individuellen Einfluss einer vorangegangenen Chemotherapie auf die Leberfunktion (43, 44). Kürzlich publizierte Ergebnisse unter Anwendung des ICG-Test zeigten ebenfalls eine Veränderung der ICG-Retentionsrate nach 15 Minuten, jedoch dies erst nach Durchführung von mindestens 6 Zyklen Chemotherapie (81). Somit scheint speziell bei Patienten mit vollständiger Regeneration der Leberfunktion mit lediglich geringem Abfall des LiMAX[®] eine frühzeitige Terminierung der Leberoperation möglich. Allerdings fehlen zum besseren Verständnis des Vorganges noch Vergleiche mit histopathologischen Proben, um so ein bestehendes sinusoidales Obstruktionssyndrom (SOS) vorhersagen und gegebenenfalls hiermit eine bestehende Funktionseinschränkung korrelieren zu können. So könnten auch Chemotherapie-Regime in Hinblick auf eine nahende Operation individueller angepasst und so das Risiko von postoperativer Morbidität verringert werden.

Auch scheint die Identifizierung und Vorbereitung von geeigneten Patienten speziell für radikale Leberresektionen von großer Bedeutung. Vereinzelt wurde über die sichere Auswahl von Patienten mit Leberzirrhose für operative Konzepte bereits berichtet (82, 83). Eine retrospektive Analyse von Zentrumsdaten scheint einen positiven Effekt des leberfunktionsorientierten Algorithmus vor Leberresektion auf die Patientenbehandlung ebenfalls nachzuweisen. Einerseits wurden häufiger Patienten mit bestehender Leberzirrhose für ein operatives Konzept vorgesehen, andererseits stieg die Zahl der proportional durchgeführten komplexen leberchirurgischen Eingriffe. Über denselben Beobachtungszeitraum zeigten sich die Fälle an postoperativem Leberversagen und die Sterblichkeit nach Leberoperationen verringert (39). All dies scheint erklärlich mit einer optimierten präoperativen Identifizierung von Risikopatienten und der Möglichkeit, Maßnahmen zur präoperativen Konditionierung vor Leberoperation durchführen zu können. So wurden nicht nur radikale Leberoperationen häufiger durchgeführt, sondern auch Patienten signifikant häufiger mittels Portalvenenembolisation (PVE) auf diese Eingriffe vorbereitet. Malinowski und Kollegen beschäftigten sich intensiv mit der Frage nach der Art der optimalen Hypertrophie-Induktion mittels PVE und dessen Auswirkung auf funktionelle Aspekte der Leberfunktion. So zeigte sich eine suffiziente Embolisation ohne Rekanalisierung als wichtiger Faktor der Hypertrophieinduktion (84). Im Rahmen der präoperativen Konditionierung mittels PVE zeigte sich das Konzept der präoperativen Volumen-/Funktionsplanung anwendbar. Geplanter

und tatsächlicher postoperativer LiMAX[®] korrelierten signifikant. Der LiMAX[®] der betroffenen Patienten zeigte nach Embolisation und im Rahmen des Hypertrophiereizes keine signifikante Veränderung (85).

Diesen Erkenntnissen folgend, stellte sich die Frage, wie sich die Leberfunktion im Rahmen des radikalen Ansatzes der zweizeitigen Leberoperation nach dem ALPPS Prinzip verhält. Im Gegensatz zur PVE besteht ein hohes Potential einer maximalen Hypertrophie-Induktion innerhalb kurzer Zeit. Allerdings geht dieses Konzept der Grenzchirurgie auch mit einer hohen Morbidität und Mortalität der Patienten einher (86). Ein Fallbericht von Kollegen der Medizinischen Hochschule Hannover bestätigt die Anwendbarkeit des LiMAX[®] in dieser operativen Ausnahmesituation. Im Fall der Kollegen war auf Basis des LiMAX[®] die Durchführung des zweiten Operationsschritts um einige Tage verzögert worden, um nach ausreichender Leberregeneration die Operation zu komplettieren. Dies gelang ohne Anzeichen von postoperativer Leberinsuffizienz im weiteren klinischen Verlauf (41). Auch wir konnten in einem größeren Kollektiv diesen Abfall der Leberfunktion mit konsekutiver Erholung nach Stufe I objektivieren. An dieser Stelle muss ein kürzlich beschriebener genereller Abfall der Leberfunktion am ersten postoperativen Tag nach abdominalen Operation diskutiert werden. Dies zeigten Kaffarnik und Kollegen in einer prospektiven Analyse von 25 Patienten im Rahmen von onkologischen abdominalen Eingriffen ohne zusätzliche Leberoperation (87). Somit scheint es speziell in diesem Kontext sinnvoll, eine repetitive Untersuchung der Leberfunktion zwischen dem ersten und zweiten Operationsschritt durchzuführen, um so die tatsächlich bestehende aktuelle funktionelle Kapazität zu objektivieren. So kann wie in der dieser Habilitationsschrift zugrundeliegenden Teilarbeit beschrieben, eine valide Volumen-/Funktionsplanung zwischen beiden Schritten erfolgen. Diese Erfahrungen zeigen den zusätzlichen Nutzen dieses Tests im Rahmen der Leberchirurgie im Grenzbereich. Anhand eines Risikoscores versucht man zwar, das individuelle Risiko für Patienten vor den jeweiligen Operationsschritten zu objektivieren, jedoch zeigt sich hier die Leberfunktion lediglich durch den Serum-Bilirubin-Wert im Modell vor Stufe II repräsentiert (88).

Neben der initial primären Evaluation des LiMAX[®] im chirurgischen Umfeld wird dessen Anwendung zunehmend für weitere Fragestellungen evaluiert. Raschok und Kollegen konnten im Rahmen der Nachsorge von lebertransplantierten Patienten mit wiederaufgetretener Hepatitis C nach erfolgreicher Therapie mit antiviral-wirkenden Medikamenten eine signifikante Besserung der Leberfunktion und des LiMAX[®] zeigen (89). Auch konnten wir in einer prospektiven Kohortenstudie die Eignung des Tests zur Beurteilung der Krankheitsschwere bei chronischer Lebererkrankung zeigen. Der LiMAX[®] korrelierte in diesem Kollektiv mit etablierten Prognose-Modellen wie MELD und Child-Pugh Score und zeigte sich in Patienten mit vergleichbarer

Krankheitsschwere mit und ohne transjugulärem intrahepatischen portosystemischen Shunt nicht unterschiedlich (37).

Das Einsatzgebiet in der Hepatologie ist vor allem für prognostische Fragestellungen interessant. So scheint die Anwendung des LiMAX[®] für den indirekten Nachweis einer bestehenden Leberzirrhose möglich. Eigene Daten - bis dato auf Kongressen und im Rahmen einer Dissertation veröffentlicht - von insgesamt 246 untersuchten Patienten mit unterschiedlicher Ausprägung von Leberzellveränderung ergaben einen optimalen Trennwert von $<240\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (Normwert $>315\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$) für die nicht-invasive Diagnose von histologisch bestätigtem zirrhotischen Umbau des Leberparenchyms (31, 90). Eine rezent veröffentlichte Studie von Kollegen aus Essen bestätigte diese Ergebnisse. Zusätzlich konnte anhand des LiMAX[®] - verglichen mit transientser Elastographie oder anderen nicht invasiven biochemischen Modellen - eine engere Korrelation mit dem Grad der Leberzellveränderungen gezeigt werden (38).

Diese Ergebnisse zeigen die Eignung des LiMAX[®] zur Einschätzung der Krankheitsschwere zum einen und zum anderen für die Eignung als Therapiemonitoring im Feld der Hepatologie. So erfolgte in den dieser Habilitationsschrift zugrundeliegenden vorab publizierten Teilergebnissen die Evaluation der prognostischen Wertigkeit im Bild des akuten und chronischen Leberversagens. Im Falle des akuten Leberversagens gilt es vorab abzuschätzen, ob sich das Organ des Patienten durch supportive Maßnahmen selbstständig erholen wird, oder ob eine Notfall-Lebertransplantation die einzige lebensrettende therapeutische Option darstellt. In Deutschland erfolgt eine Listung zur Lebertransplantation erst, wenn eine fatale Prognose attestiert werden kann. Hierfür werden beispielsweise die King's-College Criteria angewandt (71). In unserer retrospektiven Analyse von 12 Patienten zeigten sich zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses kein statischer Lebertest (Bilirubin, INR, Lebertransaminasen) und auch kein Prognosemodell (MELD-Score oder Kings-College Kriterien) zwischen Patienten mit Erholung der Leberfunktion und ohne unterschiedlich. Der LiMAX[®] der Patienten mit Spontanheilung war jedoch signifikant höher. Auf dieser Basis errechnete sich ein optimaler Trennwert von hochgradig eingeschränkten $38\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ zur Vorhersage einer spontanen Heilung oder Versterben bzw. Notwendigkeit einer Notfall-Lebertransplantation (55). Aufgrund des Studiencharakters mit geringer Fallzahl ist der Trennwert nur eingeschränkt zu werten. Allerdings bestätigte ein rezent publizierter Fallbericht aus Essen die Anwendbarkeit und den Nutzen des LiMAX[®] in diesem Krankheitsbild mit spontaner Erholung bei einem initial gemessenen LiMAX[®] von $147\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ (91). Basierend auf diesen Ergebnissen versuchten wir, auch die Prognose von Patienten mit chronischer Lebererkrankung leberfunktionsorientiert zu evaluieren. Das aktuell etablierte Modell des MELD-Scores war auf Basis von Daten von Transplantationsnetzwerken als möglichst objektives Maß zur Vorhersage der Krankheitsschwere und damit verbundener Mortalität

entwickelt worden. Allerdings bleibt eine Alternative oder zumindest Optimierung des aktuellen Systems zu diskutieren. Denn auch unter der Verwendung des MELD-Scores werden gewisse Patientengruppen benachteiligt. Untersuchungen zur diagnostischen Wertigkeit von Leberfunktionstests hinsichtlich des Krankheitsüberlebens von Patienten mit Leberzirrhose zeigten zu Anfang keinen diagnostischen Nutzen im Vergleich zu etablierten Scores. Albers und Kollegen konnten in einer im Jahr 1989 publizierten Arbeit unter 47 Patienten quantitative Leberfunktionstests nicht als unabhängige prognostische Marker für eine eingeschränkte Überlebensprognose identifizieren (92). Dies scheint mit bereits eingangs beschriebenen methodischen Limitationen der damals verwendeten Leberfunktionstests erklärlich. Hingegen konnten Salerno und Kollegen in einer prospektiven multizentrischen Untersuchung die prognostische Wertigkeit der Galactose-Eliminationsrate nachweisen (93). Verglichen mit dem Child-Pugh Score konnte eine höhere Sensitivität bei gleicher Spezifität für die Sterblichkeit innerhalb von 2 Jahren gezeigt werden. Da allerdings Ende der 1990er Jahre noch der Child-Pugh Score zur Einschätzung der Krankheitsschwere angewandt wurde, konnte die diagnostische Güte nicht mit dem MELD-Score verglichen werden. Kürzlich sprach die Arbeitsgruppe um den Kollegen Zipprich in einer groß angelegten Studie unter Anwendung multipler dynamischer Leberfunktionstests der ICG-Halbwertszeit den höchsten diagnostischen Nutzen für die Prognose des Überlebens über 1 Jahr zu (94). Ein kombinierter MELD-ICG Score zeigte hier in einer Subgruppe von Patienten mit moderater Lebererkrankung eine höhere prognostische Güte als MELD oder MELD-Natrium.

Diese widersprüchlichen Resultate berücksichtigend, untersuchten wir die Vorhersagekraft von LiMAX[®] und ICG-Plasmaverschwinderate in einer prospektiven Analyse von 167 Patienten mit Leberzirrhose. Ein LiMAX[®] $<55\mu\text{g}/\text{kg}/\text{h}$ zeigte sich mit einer erhöhten Sterblichkeit auf der Transplantationswarteliste assoziiert. Die ICG-Plasmaverschwinderate eignete sich allerdings nicht als Parameter zur Unterscheidung von Patienten, die verstarben oder überlebten. Da die prognostische Stärke dieses LiMAX[®] Trennwerts mit einem MELD-Score >20 Punkte vergleichbar war und anhand des LiMAX[®] jene Patienten, welche innerhalb des 6-monatigen Beobachtungszeitraums nicht verstarben, akkurat identifiziert werden konnten, kann auf einen zusätzlichen prognostischen Nutzen der Testmethodik bei Patienten mit moderater Leberfunktionseinschränkung geschlossen werden (56). Basierend auf diesen Ergebnissen erfolgte in einem weit größeren Kollektiv die Evaluation aller bisher bekannten, die Prognose bei Leberzirrhose beeinflussenden Faktoren (Parameter, welche zur Berechnung des MELD-Scores und Child-Pugh Scores herangezogen werden, sowie der Serum-Natrium-Spiegel und LiMAX[®]). In einer multivariaten Regressionsanalyse untersuchten wir die Aussagekraft dieser Parameter einzeln auf ihre individuelle Vorhersagekraft. Lediglich der Serum-Kreatinin-Spiegel und LiMAX[®]

zeigten sich als signifikante, unabhängige prädiktive Faktoren für die Sterblichkeit von Patienten mit Leberzirrhose. Diese höchste statistische Ansprüche erfüllende Analyse bestätigt erstmalig den enormen Stellenwert der - mittels des LiMAX[®] Tests gemessenen - aktuellen enzymatischen Leberfunktion für die Prognose von Patienten mit Leberzirrhose. Das hierauf berechnete alternative, lediglich aus zwei Parametern bestehende Modell zeigt eine vergleichbar hohe diagnostische Güte zur Vorhersage der 3-Monatssterblichkeit wie der MELD-Score (40).

Eine durch Stravitz und Kollegen hochkarätig publizierte Arbeit untersuchte den zusätzlichen Nutzen eines oralen ¹³C-basierten Atemtests, um das Auftreten von Komplikationen von Patienten mit Leberzirrhose vorherzusagen (95). In diesem Kollektiv konnte speziell im frühen Stadium der Lebererkrankung das Risiko eines Auftretens von mit Leberzirrhose assoziierten Komplikationen anhand eines hochgradig eingeschränkten Testresultats eingeschätzt werden.

Diese Ergebnisse zeugen vom großen Potential des LiMAX[®] außerhalb des chirurgischen Feldes. Viele Fragestellungen sind noch nicht ausreichend beleuchtet und werden aktuell von unterschiedlichsten Forschungsgruppen untersucht, um so durch die Berücksichtigung der aktuellen enzymatischen Leberfunktion ein leberfunktionsorientiertes Behandlungskonzept zu entwickeln und so gegebenenfalls zu einer Verbesserung der medizinischen Betreuung von Patienten zu führen.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Vielfach werden im klinischen Alltag lediglich Surrogatmarker zur Einschätzung der aktuellen Leberfunktion verwendet. Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnten zum einen die methodische Robustheit des LiMAX[®], zum anderen die diagnostische Wertigkeit der - mittels des LiMAX[®] gemessenen - aktuellen enzymatischen Leberfunktion in den Feldern der Transplantations- und Leberchirurgie, Intensivmedizin und Hepatologie darlegen (27-29, 35, 39, 42, 46, 96).

In den dieser Habilitationsschrift zugrunde liegenden Arbeiten konnten nun Faktoren, welche zu einer reduzierten präoperativen Leberfunktion beitragen, beleuchtet werden. So wurde der Einfluss einer präoperativ durchgeführten Oxaliplatin-haltigen Chemotherapie als ein Risikofaktor für eine Verringerung der aktuellen Leberfunktion identifiziert und erstmalig deren individuelle Erholung nach Beendigung der Chemotherapie beschrieben. Ebenso konnten die Auswirkungen einer ALPPS Prozedur auf die enzymatische Leberfunktion von Patienten zwischen den einzelnen Operationsschritten beschrieben werden.

Im Wissen um die in diesen Teilarbeiten aufgezeigten Aspekte scheint ein Monitoring der Leberfunktion von Patienten mit ausgedehnter kolorektaler Lebermetastasierung sinnvoll. So könnte in dieser schwierigen Situation die Entscheidungsfindung hinsichtlich der Art der Durchführung sowie Terminierung eines operativen Konzepts verbessert werden.

Zudem erscheinen die etablierten Prognosemodelle zur Einschätzung der Krankheitsschwere vor Lebertransplantation weiterhin diskutabel (71, 72). Obgleich des Versuchs der objektiven Einschätzung der Krankheitsschwere unter Anwendung spezifischer prognostischer Modelle, bleiben Verbesserungsvorschläge, um den Krankheitsverlauf von Patienten mit akutem oder chronischem Leberversagen individueller abzuschätzen, bestehen. Anhand der dieser Habilitationsschrift zugrundeliegenden Teilergebnisse konnte die - mittels des LiMAX[®] gemessene - aktuelle enzymatische Leberfunktion als Prognoseparameter im akuten sowie chronischen Leberversagen bestätigt werden. Zudem konnte ein alternatives leberfunktionsorientiertes Prognosemodell ausgearbeitet werden, um das Kurzzeitüberleben von Patienten mit Leberzirrhose zu evaluieren. Dieses Modell zeigte eine vergleichbare prognostische Stärke wie der MELD-Score.

Durch die Arbeitsgruppe um Professor Martin Stockmann wurde die Testmethodik experimentell verfeinert, klinisch evaluiert und schlussendlich auf Basis mehrerer Pilotstudien erfolgreich in den klinischen Alltag transferiert. Die Anwendbarkeit und der klinische Nutzen des LiMAX[®] Tests konnten für viele Fragestellungen in unterschiedlichen Teilbereichen der Medizin demonstriert werden. Auch erfolgte kürzlich nach erfolgreicher Durchführung einer randomisiert kontrollierten

Phase III Studie nach Arzneimittelgesetz die Zulassung des Testsubstrats durch das Bundesamt für Arzneimittel und Medizinprodukte (34). Somit erfüllt der LiMAx[®] Test heute neben methodischen Maßgaben auch notwendige regulative Voraussetzungen und findet derzeit an 30 Krankenhäusern europaweit Anwendung.

5. LITERATURANGABEN

1. Laker MF. Liver function tests. *BMJ*. 1990;301(6746):250-1.
2. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *The New England journal of medicine*. 2001;344(7):495-500.
3. Morris-Stiff G, Gomez D, Prasad R. Quantitative assessment of hepatic function and its relevance to the liver surgeon. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*. 2009;13(2):374-85.
4. Sakka SG. Assessing liver function. *Current opinion in critical care*. 2007;13(2):207-14.
5. Paumgartner G. The handling of indocyanine green by the liver. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 1975;105(17 Suppl):1-30.
6. Horak W, Grabner G, Paumgartner G. Effect of indocyanine green on bile flow and bile salt excretion. *Helv Med Acta*. 1973;37(2):169-74.
7. Yokoyama Y, Nishio H, Ebata T, Igami T, Sugawara G, Nagino M. Value of indocyanine green clearance of the future liver remnant in predicting outcome after resection for biliary cancer. *The British journal of surgery*. 2010;97(8):1260-8.
8. Sakka SG. Assessment of liver perfusion and function by indocyanine green in the perioperative setting and in critically ill patients. *J Clin Monit Comput*. 2018;32(5):787-96.
9. De Gasperi A, Mazza E, Prosperi M. Indocyanine green kinetics to assess liver function: Ready for a clinical dynamic assessment in major liver surgery? *World J Hepatol*. 2016;8(7):355-67.
10. Oellerich M, Burdelski M, Lautz HU, Schulz M, Schmidt FW, Herrmann H. Lidocaine metabolite formation as a measure of liver function in patients with cirrhosis. *Therapeutic drug monitoring*. 1990;12(3):219-26.
11. Oellerich M, Burdelski M, Ringe B, Lamesch P, Gubernatis G, Bunzendahl H, et al. Lidocaine metabolite formation as a measure of pre-transplant liver function. *Lancet*. 1989;1(8639):640-2.
12. Perri F, Marras RM, Ricciardi R, Quitadamo M, Andriulli A. ¹³C-breath tests in hepatology (cytosolic liver function). *European review for medical and pharmacological sciences*. 2004;8(1):47-9.
13. Afolabi P, Wright M, Wootton SA, Jackson AA. Clinical utility of (13)c-liver-function breath tests for assessment of hepatic function. *Digestive diseases and sciences*. 2013;58(1):33-41.
14. Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, Watkins JB, Klein PD. Clinical diagnosis with the stable isotope ¹³C in CO₂ breath tests: methodology and fundamental considerations. *J Lab Clin Med*. 1977;90(3):412-21.
15. Schneider JF, Schoeller DA, Nemchausky B, Boyer JL, Klein P. Validation of ¹³CO₂ breath analysis as a measurement of demethylation of stable isotope labeled aminopyrine in man. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1978;84(1-2):153-62.
16. Rocco A, de Nucci G, Valente G, Compare D, D'Arienzo A, Cimino L, et al. (13)C-Aminopyrine breath test accurately predicts long-term outcome of chronic hepatitis C. *Journal of hepatology*. 2012;56(4):782-7.
17. Perri F, Bellini M, Portincasa P, Parodi A, Bonazzi P, Marzio L, et al. (13)C-octanoic acid breath test (OBT) with a new test meal (EXPIROGer): Toward standardization for testing gastric

emptying of solids. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010;42(8):549-53.

18. Candelli M, Cazzato IA, Zocco MA, Nista EC, Fini L, Armuzzi A, et al. 13C-breath tests in the study of mitochondrial liver function. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2004;8(1):23-31.

19. Nista EC, Fini L, Armuzzi A, Candelli M, Zocco MA, Cazzato IA, et al. 13C-breath tests in the study of microsomal liver function. *European review for medical and pharmacological sciences*. 2004;8(1):33-46.

20. Modak AS. (13)C breath tests in personalized medicine: fiction or reality? Expert review of molecular diagnostics. 2009;9(8):805-15.

21. Stockmann M. Wertigkeit eines neu entwickelten Verfahrens zur Bestimmung der Leberfunktion in der Leberchirurgie (LiMAX-Test). Berlin: Medizinische Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin; 2009.

22. Palmer CN, Coates PJ, Davies SE, Shephard EA, Phillips IR. Localization of cytochrome P-450 gene expression in normal and diseased human liver by in situ hybridization of wax-embedded archival material. *Hepatology*. 1992;16(3):682-7.

23. Lane EA, Parashos I. Drug pharmacokinetics and the carbon dioxide breath test. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1986;14(1):29-49.

24. Matsumoto K, Suehiro M, Iio M, Kawabe T, Shiratori Y, Okano K, et al. [13C]methacetin breath test for evaluation of liver damage. *Digestive diseases and sciences*. 1987;32(4):344-8.

25. Kasicka-Jonderko A, Jonderko K, Budniok M, Krusiec-Swidergol B, Blonska-Fajfrowska B. Search for an optimum dosage regimen of the substrate for the 13C-methacetin breath. *Exp Clin Hep*. 2006;2(2):17.

26. Rubin T, von Haimberger T, Helmke A, Heyne K. Quantitative determination of metabolism dynamics by a real-time 13CO₂ breath test. *Journal of breath research*. 2011;5(2):027102.

27. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne K, Martus P, Fricke M, et al. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. *Annals of surgery*. 2009;250(1):119-25.

28. 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 : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association*. 2010;12(2):139-46.

29. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Puhl G, Pratschke J, et al. How to define initial poor graft function after liver transplantation? - a new functional definition by the LiMAX test. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2010;23(10):1023-32.

30. Lock JF, Schwabauer E, Martus P, Videv N, Pratschke J, Malinowski M, et al. Early diagnosis of primary nonfunction and indication for reoperation after liver transplantation. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2010;16(2):172-80.

31. Jara M. Evaluation und klinischer Nutzen eines 13C-Leberfunktionstests für den Einsatz in der Leberchirurgie
2016.

32. Lock JF, Taheri P, Bauer S, Holzhutter HG, Malinowski M, Neuhaus P, et al. Interpretation of non-invasive breath tests using (13)C-labeled substrates--a preliminary report with (13)C-methacetin. *European journal of medical research*. 2009;14:547-50.
33. Rubin TM, Heyne K, Luchterhand A, Jan B, F WRV, Polychronidis G, et al. Kinetic validation of the LiMax test during 10 000 intravenous (13)C-methacetin breath tests. *Journal of breath research*. 2017;12(1):016005.
34. Stockmann M, Vondran FWR, Fahrner R, Tautenhahn HM, Mittler J, Bektas H, et al. Randomized clinical trial comparing liver resection with and without perioperative assessment of liver function. *BJS Open*. 2018;2(5):301-9.
35. Jara M, Bednarsch J, Valle E, Lock JF, Malinowski M, Schulz A, et al. Reliable assessment of liver function using LiMax. *J Surg Res*. 2015;193(1):184-9.
36. Jara M, Dziodzio T, Malinowski M, Luttgert K, Nikolov R, Ritschl PV, et al. Prospective Assessment of Liver Function by an Enzymatic Liver Function Test to Estimate Short-Term Survival in Patients with Liver Cirrhosis. *Digestive diseases and sciences*. 2019. 64(2):576-84.
37. Malinowski M, Jara M, Luttgert K, Orr J, Lock JF, Schott E, et al. Enzymatic Liver Function Capacity Correlates with Disease Severity of Patients with Liver Cirrhosis: A Study with the LiMax Test. *Digestive diseases and sciences*. 2014.
38. Buechter M, Thimm J, Baba HA, Bertram S, Willuweit K, Gerken G, et al. Liver Maximum Capacity: A Novel Test to Accurately Diagnose Different Stages of Liver Fibrosis. *Digestion*. 2018:1-10.
39. Jara M, Reese T, Malinowski M, Valle E, Seehofer D, Puhl G, et al. Reductions in post-hepatectomy liver failure and related mortality after implementation of the LiMax algorithm in preoperative work-up: a single-centre analysis of 1170 hepatectomies of one or more segments. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association*. 2015;17(7):651-8.
40. Jara M, Öllinger R, Schmelzle M, Pratschke J. Multimodale Leberaugmentationsstechniken (Portalvenenembolisation, Associating Liver Partition with Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy) und Volumen-/Funktionsplanung. *Zentralblatt für Chirurgie*. 2018;143(1):7 - 10.
41. Oldhafer F, Ringe KI, Timrott K, Kleine M, Ramackers W, Cammann S, et al. Monitoring of liver function in a 73-year old patient undergoing 'Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy': case report applying the novel liver maximum function capacity test. *Patient Saf Surg*. 2016;10:16.
42. Lock JF, Malinowski M, Seehofer D, Hoppe S, Rohl RI, Niehues SM, et al. Function and volume recovery after partial hepatectomy: influence of preoperative liver function, residual liver volume, and obesity. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*. 2012;397(8):1297-304.
43. Jara M, Bednarsch J, Malinowski M, Pratschke J, Stockmann M. Effects of oxaliplatin-based chemotherapy on liver function--an analysis of impact and functional recovery using the LiMax test. *Langenbeck's archives of surgery / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie*. 2016;401(1):33-41.
44. Lock JF, Westphal T, Rubin T, Malinowski M, Schulz A, Jara M, et al. LiMax Test Improves Diagnosis of Chemotherapy-Associated Liver Injury Before Resection of Colorectal Liver Metastases. *Annals of surgical oncology*. 2017;24(9):2447-55.
45. Stockmann M, Bednarsch J, Malinowski M, Bluthner E, Pratschke J, Seehofer D, et al. Functional considerations in ALPPS - consequences for clinical management. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association*. 2017;19(11):1016-25.

46. Kaffarnik MF, Lock JF, Vetter H, Ahmadi N, Lojewski C, Malinowski M, et al. Early diagnosis of sepsis-related hepatic dysfunction and its prognostic impact on survival: a prospective study with the LiMAx test. *Crit Care*. 2013;17(5):R259.
47. Kaffarnik MF, Ahmadi N, Lock JF, Wuensch T, Pratschke J, Stockmann M, et al. Correlation between plasma endothelin-1 levels and severity of septic liver failure quantified by maximal liver function capacity (LiMAx test). A prospective study. *PLoS One*. 2017;12(5):e0178237.
48. Abbanat D, Macielag M, Bush K. Novel antibacterial agents for the treatment of serious Gram-positive infections. *Expert Opin Investig Drugs*. 2003;12(3):379-99.
49. Gonzalez D, Conrado DJ, Theuretzbacher U, Derendorf H. The effect of critical illness on drug distribution. *Curr Pharm Biotechnol*. 2011;12(12):2030-6.
50. Lock JF, Malinowski M, Schwabauer E, Martus P, Pratschke J, Seehofer D, et al. Initial liver graft function is a reliable predictor of tacrolimus trough levels during the first post-transplant week. *Clinical transplantation*. 2011;25(3):436-43.
51. Wicha SG, Frey OR, Roehr AC, Pratschke J, Stockmann M, Alraish R, et al. Linezolid in liver failure: exploring the value of the maximal liver function capacity (LiMAx) test in a pharmacokinetic pilot study. *Int J Antimicrob Agents*. 2017;50(4):557-63.
52. Alqahtani SA. Update in liver transplantation. *Current opinion in gastroenterology*. 2012;28(3):230-8.
53. Struecker B, Raschzok N, Sauer IM. Liver support strategies: cutting-edge technologies. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2014;11(3):166-76.
54. Major RD, Kluge M, Jara M, Nosser M, Horner R, Gassner J, et al. The Predictive Value of the Maximal Liver Function Capacity Test for the Isolation of Primary Human Hepatocytes. *Tissue Eng Part C Methods*. 2018;24(3):179-86.
55. Lock JF, Kotobi AN, Malinowski M, Schulz A, Jara M, Neuhaus P, et al. Predicting the prognosis in acute liver failure: results from a retrospective pilot study using the LiMAx test. *Annals of hepatology*. 2013;12(4):556-62.
56. Jara M, Malinowski M, Luttgert K, Schott E, Neuhaus P, Stockmann M. Prognostic value of enzymatic liver function for the estimation of short-term survival of liver transplant candidates: a prospective study with the LiMAx test. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2015;28(1):52-8.
57. Parks R, Gonen M, Kemeny N, Jarnagin W, D'Angelica M, DeMatteo R, et al. Adjuvant chemotherapy improves survival after resection of hepatic colorectal metastases: analysis of data from two continents. *Journal of the American College of Surgeons*. 2007;204(5):753-61; discussion 61-3.
58. Portier G, Elias D, Bouche O, Rougier P, Bosset JF, Saric J, et al. Multicenter randomized trial of adjuvant fluorouracil and folinic acid compared with surgery alone after resection of colorectal liver metastases: FFCD ACHBTH AURC 9002 trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2006;24(31):4976-82.
59. Rubbia-Brandt L, Audard V, Sartoretti P, Roth AD, Brezault C, Le Charpentier M, et al. Severe hepatic sinusoidal obstruction associated with oxaliplatin-based chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2004;15(3):460-6.
60. Morris-Stiff G, Tan YM, Vauthey JN. Hepatic complications following preoperative chemotherapy with oxaliplatin or irinotecan for hepatic colorectal metastases. *European journal of*

surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology. 2008;34(6):609-14.

61. Zorzi D, Laurent A, Pawlik TM, Lauwers GY, Vauthey JN, Abdalla EK. Chemotherapy-associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases. *The British journal of surgery*. 2007;94(3):274-86.

62. Chun YS, Laurent A, Maru D, Vauthey JN. Management of chemotherapy-associated hepatotoxicity in colorectal liver metastases. *The lancet oncology*. 2009;10(3):278-86.

63. Bismuth H, Adam R, Levi F, Farabos C, Waechter F, Castaing D, et al. Resection of nonresectable liver metastases from colorectal cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Annals of surgery*. 1996;224(4):509-20; discussion 20-2.

64. Alberts SR, Horvath WL, Sternfeld WC, Goldberg RM, Mahoney MR, Dakhil SR, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin for patients with unresectable liver-only metastases from colorectal cancer: a North Central Cancer Treatment Group phase II study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(36):9243-9.

65. Adam R, Delvart V, Pascal G, Valeanu A, Castaing D, Azoulay D, et al. Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Annals of surgery*. 2004;240(4):644-57; discussion 57-8.

66. Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, Nadalin S, Baumgart J, Farkas SA, et al. Right Portal Vein Ligation Combined With In Situ Splitting Induces Rapid Left Lateral Liver Lobe Hypertrophy Enabling 2-Stage Extended Right Hepatic Resection in Small-for-Size Settings. *Annals of surgery*. 2012;255(3):405-14.

67. Schadde E, Ardiles V, Slankamenac K, Tschuor C, Sergeant G, Amacker N, et al. ALPPS offers a better chance of complete resection in patients with primarily unresectable liver tumors compared with conventional-staged hepatectomies: results of a multicenter analysis. *World journal of surgery*. 2014;38(6):1510-9.

68. Schadde E, Hernandez-Alejandro R, Lang H, de Santibanes E, Clavien PA. ALPPS Offers a Better Chance of Complete Resection in Patients with Primarily Unresectable Liver Tumors. Results of a Multicentre Analysis: Reply. *World journal of surgery*. 2015;39(7):1850-1.

69. Canbay A, Tacke F, Hadem J, Trautwein C, Gerken G, Manns MP. Acute liver failure: a life-threatening disease. *Deutsches Arzteblatt international*. 2011;108(42):714-20.

70. Anand AC, Nightingale P, Neuberger JM. Early indicators of prognosis in fulminant hepatic failure: an assessment of the King's criteria. *Journal of hepatology*. 1997;26(1):62-8.

71. McPhail MJ, Wendon JA, Bernal W. Meta-analysis of performance of Kings's College Hospital Criteria in prediction of outcome in non-paracetamol-induced acute liver failure. *Journal of hepatology*. 2010;53(3):492-9.

72. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology*. 2003;124(1):91-6.

73. Walker NM, Stuart KA, Ryan RJ, Desai S, Saab S, Nicol JA, et al. Serum ferritin concentration predicts mortality in patients awaiting liver transplantation. *Hepatology*. 2010;51(5):1683-91.

74. Zoedler T, Ebener C, Becker H, Roehrer HD. Evaluation of liver function tests to predict operative risk in liver surgery. *HPB surgery : a world journal of hepatic, pancreatic and biliary surgery*. 1995;9(1):13-8.

75. Ercolani G, Grazi GL, Calliva R, Pierangeli F, Cescon M, Cavallari A, et al. The lidocaine (MEGX) test as an index of hepatic function: its clinical usefulness in liver surgery. *Surgery*. 2000;127(4):464-71.
76. Okochi O, Kaneko T, Sugimoto H, Inoue S, Takeda S, Nakao A. ICG pulse spectrophotometry for perioperative liver function in hepatectomy. *J Surg Res*. 2002;103(1):109-13.
77. Lodewick TM, Alizai PH, van Dam RM, Roeth AAJ, Schmeding M, Heidenhain C, et al. Effect of Age on Liver Function in Patients Undergoing Partial Hepatectomy. *Digestive surgery*. 2017;34(3):233-40.
78. Lodewick TM, Roeth AA, Olde Damink SW, Alizai PH, van Dam RM, Gassler N, et al. Sarcopenia, obesity and sarcopenic obesity: effects on liver function and volume in patients scheduled for major liver resection. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2015;6(2):155-63.
79. Alizai PH, Wendl J, Roeth AA, Klink CD, Luedde T, Steinhoff I, et al. Functional Liver Recovery After Bariatric Surgery-a Prospective Cohort Study with the LiMAX Test. *Obes Surg*. 2015.
80. Andreou A, Kopetz S, Maru DM, Chen SS, Zimmitti G, Brouquet A, et al. Adjuvant chemotherapy with FOLFOX for primary colorectal cancer is associated with increased somatic gene mutations and inferior survival in patients undergoing hepatectomy for metachronous liver metastases. *Annals of surgery*. 2012;256(4):642-50.
81. Hiwatashi K, Ueno S, Sakoda M, Iino S, Minami K, Mori S, et al. The Evaluation of Liver Function and Surgical Influence by ICGR15 after Chemotherapy for Colorectal Liver Metastases. *J Cancer*. 2016;7(5):595-9.
82. Cammann S, Oldhafer F, Ringe KI, Ramackers W, Timrott K, Kleine M, et al. Use of the liver maximum function capacity test (LiMAX) for the management of liver resection in cirrhosis - A case of hypopharyngeal cancer liver metastasis. *Int J Surg Case Rep*. 2017;39:140-4.
83. Seehofer D, Sucher R, Schmelzle M, Ollinger R, Lederer A, Denecke T, et al. Evolution of laparoscopic liver surgery as standard procedure for HCC in cirrhosis? *Zeitschrift fur Gastroenterologie*. 2017;55(5):453-60.
84. Malinowski M, Geisel D, Sary V, Denecke T, Seehofer D, Jara M, et al. Portal vein embolization with plug/coils improves hepatectomy outcome. *J Surg Res*. 2015;194(1):202-11.
85. Malinowski M, Lock JF, Seehofer D, Gebauer B, Schulz A, Demirel L, et al. Preliminary study on liver function changes after trisectionectomy with versus without prior portal vein embolization. *Surgery today*. 2016;46(9):1053-61.
86. Vivarelli M, Vincenzi P, Montalti R, Fava G, Tavio M, Coletta M, et al. ALPPS Procedure for Extended Liver Resections: A Single Centre Experience and a Systematic Review. *PLoS One*. 2015;10(12):e0144019.
87. Kaffarnik M, Stoeger G, Liebich J, Grieser C, Pratschke J, Stockmann M. Liver Function, Quantified by LiMAX Test, After Major Abdominal Surgery. Comparison Between Open and Laparoscopic Approach. *World journal of surgery*. 2018;42(2):557-66.
88. Linecker M, Stavrou GA, Oldhafer KJ, Jenner RM, Seifert B, Lurje G, et al. The ALPPS Risk Score: Avoiding Futile Use of ALPPS. *Annals of surgery*. 2016;264(5):763-71.
89. Raschzok N, Schott E, Reutzel-Selke A, Damrah I, Gul-Klein S, Strucker B, et al. The impact of directly acting antivirals on the enzymatic liver function of liver transplant recipients with recurrent hepatitis C. *Transpl Infect Dis*. 2016;18(6):896-903.

90. Stockmann M, Lock JF, Malinowski M, Scharfenberg A, Morawietz L, Neuhaus P. Diagnosis of cirrhosis by the new LiMAx test. *Hepatology*. 2010;52(4):1131A-2A.
91. Buechter M, Gerken G, Hoyer DP, Bertram S, Theysohn JM, Thodou V, et al. Liver maximum capacity (LiMAx) test as a helpful prognostic tool in acute liver failure with sepsis: a case report. *BMC Anesthesiol*. 2018;18(1):71.
92. Albers I, Hartmann H, Bircher J, Creutzfeldt W. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function tests for assessing prognosis of liver cirrhosis. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 1989;24(3):269-76.
93. Salerno F, Borroni G, Moser P, Sangiovanni A, Almasio P, Budillon G, et al. Prognostic value of the galactose test in predicting survival of patients with cirrhosis evaluated for liver transplantation. A prospective multicenter Italian study. AISF Group for the Study of Liver Transplantation. Associazione Italiana per lo Studio del Fegato. *Journal of hepatology*. 1996;25(4):474-80.
94. Zipprich A, Kuss O, Rogowski S, Kleber G, Lotterer E, Seufferlein T, et al. Incorporating indocyanin green clearance into the Model for End Stage Liver Disease (MELD-ICG) improves prognostic accuracy in intermediate to advanced cirrhosis. *Gut*. 2010;59(7):963-8.
95. Stravitz RT, Reuben A, Mizrahi M, Lalazar G, Brown K, Gordon SC, et al. Use of the methacetin breath test to classify the risk of cirrhotic complications and mortality in patients evaluated/listed for liver transplantation. *Journal of hepatology*. 2015;63(6):1345-51.
96. Lock J, Reinhold T, Bloch A, Malinowski M, Schmidt SC, Neuhaus P, et al. The cost of graft failure and other severe complications after liver transplantation - experience from a German Transplant Center. *Annals of transplantation : quarterly of the Polish Transplantation Society*. 2010;15(3):11-8.

DANKSAGUNG

Ich danke meinem chirurgischen Lehrer Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Johann Pratschke, Direktor der chirurgischen Klinik, Campus Charité Mitte | Campus Virchow Klinikum der Charité - Universitätsmedizin Berlin, für seine Unterstützung in meiner Entwicklung zu einem klinisch-akademischen Chirurgen. Ich bedanke mich für die Möglichkeit der Realisierung und Umsetzung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Martin Stockmann für die wohlwollende Förderung und Unterstützung meiner anfänglichen Forschungstätigkeit und seine bis zum heutigen Tag andauernde wissenschaftlich-akademische Begleitung.

Zudem danke ich allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe sowie Kooperationspartner. Im Speziellen danke ich Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Johan Lock, Herrn Dr. med. Maciej Malinowski, Frau Dr. med. Antje Schulz-Malinowski und Herrn Dr. med. Jan Bednarsch für eine Arbeitsatmosphäre voller Inspiration und Freude und für viele Jahre guter Freundschaft. Ich danke meinen Doktoranden, welche durch Freude, Einsatz und Eifer unsere gemeinsamen Forschungsprojekte realisierbar machten. Speziell möchte ich mich hier bei Frau Dr. med. Katja Lüttgert und Antonia Rothkäppl bedanken, die mit mir gemeinsam an den dieser Habilitationsschrift zugrundeliegenden Forschungsprojekten gewachsen sind und sich tatkräftig eingebracht haben. Ich wünsche ihnen beiden auf ihrem weiteren Lebensweg alles Gute.

Großer Dank gilt den Kollegen des Transplantationsbüros (namentlich Herrn Thomas Mehltz, Herrn Gunter Dreger und Frau Constanze Waldmann) für ein immer offenes Ohr und deren herzliche Unterstützung.

Mein tiefster Dank gilt abschließend meiner Ehefrau Jaantje für ihr nicht endendes Verständnis, dieses Kapitel meiner akademischen Laufbahn an meiner Seite zu beschreiten. Danke für deine Unterstützung, für die liebevolle Fürsorge unserer gemeinsamen Kinder in den vielen Stunden zu Hause, in denen ich gefehlt habe und die Liebe, die du mir Tag für Tag entgegenbringst.

ERKLÄRUNG

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

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

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité - Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....
Datum

.....
Dr. med. Maximilian Jara