

Die klinische Bedeutung der hepatischen Indocyaningrün-
Exkretion zur Beurteilung der hepatozellulären Dys-
funktion bei Patienten nach Lebertransplantation

Eine prospektive observative Studie

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Martin Siering
geboren am 17.05.1984 in Suhl

Gutachter (akademischer Grad, Vor- und Nachname sowie Wirkungsort)

1. Herr PD Dr. Andreas Kortgen, Universitätsklinikum Jena, FSU Jena
2. Herr Prof. Dr. Utz Settmacher, Universitätsklinikum Jena, FSU Jena
3. Herr PD Dr. Andreas Schnitzbauer, Universitätsklinikum Frankfurt, Goethe Universität

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.04.2014

Abkürzungsverzeichnis

AE	Anion Exchanger
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
APTT	Aktivierte Partielle Thromboplastinzeit
Art.	Arteriell
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
AT3	Antithrombin 3
ATP	Adenosin-Triphosphat
AUC	Area Under The Curve
BCRP	Breast Cancer Resistance Protein
BSEP	Bile Salt Export Pump
CHE	Cholinesterase
CMV	Cytomegalie-Virus
CRP	C-reaktives Protein
EAD	Early allograft dysfunction
EKG	Elektrokardiogramm
FFP	Fresh Frozen Plasma
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GSH	Glutathion
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
ICG	Indocyaningrün
IL	Interleukin
ITBL	Ischemic Type Biliary Lesion
ITS	Intensivstation
KOD-PL	Kolloid-Osmotischer Druck im Plasma
LPS	Lipopolysaccharid
LTX	Lebertransplantation
MDR	Multidrug Resistance Protein
MELD	Model of End Stage Liver Disease
MRP	Multidrug Resistance Associated Protein
MW	Mittelwert
NA	Noradrenalin
NTCP	Natrium-Taurocholat-cotransporting-Polypeptide
OATP	Organic Anion Transporting Polypeptide
OCT	Organic Cation Transporter
OP	Operation
PCT	Procalcitonin
PDR	Plasma Disappearance Rate (Plasmaverschwinderate)
PPSB	Prothrombinkomplex

P.OP.	Postoperativ
ROC	Receiver Operating Characteristic
SAPS II	Simplified Acute Physiology Score II
SD	Standardabweichung
SEM	Standard error of the mean
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
UDP	Uridyl-Diphosphat
UGT1A1	Uridyl-Diphosphat-Glucuronosyltransferase 1A1
UTP	Uridyl-Triphosphat
ZVD	Zentraler Venendruck

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	V
Zusammenfassung	7
1 Einleitung	9
1.1 Lebertransplantation	10
1.1.1 Grundlagen der Lebertransplantation	10
1.1.2 Transplantatdysfunktion nach Lebertransplantation	10
1.1.3 Inflammationsrelevante Veränderungen nach Lebertransplantation	12
1.2 Lebermonitoring mittels der PDRICG	12
1.2.1 Indocyaningrün (ICG)	13
1.2.2 PDR _{ICG}	15
1.3 Hepato-biliäre Transportsysteme	18
1.3.1 Grundlagen der hepato-biliären Transportsysteme	18
1.3.2 ICG-Eliminationsrelevante pathophysiologisch-inflammatorische Transporterregulierungen	20
2 Ziele der Arbeit	22
3 Methoden	24
3.1 Klinischer Rahmen	24
3.1.1 Patientenkollektiv	24
3.1.2 Ausschlusskriterien	24
3.1.3 Therapieschema	24
3.1.4 Laborschema	25
3.1.5 Intensivmedizinisches Monitoring	25
3.1.6 Bestimmung der Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün (PDR _{ICG})	26
3.1.7 Intensivmedizinische Interventionen	26
3.1.8 T-Drainage	26
3.1.9 Endpunkte der Studie	27
3.2 Aufarbeitung der Proben	27
3.2.1 Proben und Materialien	27
3.2.2 Herstellung der versuchsfertigen Galleproben	28
3.2.3 Anfertigung der Verdünnungsreihe	28
3.3 Vermessung der Proben	29
3.3.1 Gerät	29
3.3.2 Vermessung der Proben	29
3.4 Auswertung der Proben und klinischen Daten	29
3.4.1 Berechnung der ICG-Konzentration in der Patientengalle	29

3.4.2	Statistische Auswertung der Daten	31
4	Ergebnisse	32
4.1	Patientenkollektiv	32
4.2	Demographische Daten Gesamtkollektiv	33
4.3	90-Tage-Überleben	34
4.3.2	Receiver Operating Characteristics (ROC-Kurven) für das 90-Tage-Überleben	39
4.4	90-Tage-Transplantatüberleben	43
4.5	Early Allograft Dysfunction	49
5	Diskussion	53
5.1	Kritische Wertung der Methodik	54
5.1.1	Die Lebertransplantation als Modell zur Pathophysiologie der Leber bei frühinflammatorischen systemischen Veränderungen	54
5.1.2	PDR _{ICG}	55
5.1.2.1	Die Leberperfusion als Störgröße	55
5.1.2.2	Dosierung von ICG	56
5.1.2.3	Zeitpunkt der Messung	56
5.1.2.4	Wertigkeit der PDR _{ICG}	56
5.1.3	Biliäre ICG-Spitzenkonzentration	57
5.1.4	Gewinnung, Lagerung und Vermessung der Galleproben	58
5.1.5	„Routine“-Labor	59
5.1.6	Gallefluss	59
5.3	Diskussion der Ergebnisse	60
5.3.1	PDR _{ICG} und die biliäre Ausscheidung von ICG	60
5.3.2	Bilirubin	65
5.3.3	Intensivmedizinische Scores	67
5.3.4	Der Gallefluss	69
6	Schlussfolgerung	71
7	Literatur und Quellenverzeichnis	72
8	Anhang	81
8.1	Ehrenwörtliche Erklärung	81
8.2	Lebenslauf	82
8.3	Danksagung	84

Zusammenfassung

Die Lebertransplantation ist für einige akute und chronische Lebererkrankungen die einzige kurative Behandlungsmöglichkeit und eine optimale postoperative Behandlung ist für einen positiven Therapieerfolg essentiell. Gerade in der Frühphase nach Transplantation treten die meisten Komplikationen auf. Um diese frühzeitig erkennen und behandeln zu können, braucht es gute und schnelle Diagnostika. Konventionelle Leberlaborparameter sind hierfür wenig hilfreich. Neuere, so genannte dynamische Leberfunktionstests haben sich als überlegen erwiesen. Dazu gehört auch die Bestimmung der Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün (PDR_{ICG}), ein bettseitig verfügbares, nichtinvasives Verfahren, bei dem nach einer Bolusinjektion Indocyaningrün (ICG) dessen Abfall der Serumkonzentration gemessen wird. Trotz vielfach positiver Evaluierung des Verfahrens an verschiedenen Patientengruppen gibt es – vor allem tierexperimentell erbrachte Hinweise – auf Limitationen der PDR_{ICG} unter frühinflammatorischen Bedingungen, wie sie auch nach einer Lebertransplantation zu finden sind.

Ziel dieser prospektiven observativen Untersuchung war es, die klinische Wertigkeit der PDR_{ICG} unter frühinflammatorischen Bedingungen anhand lebertransplantierte Patienten zu evaluieren und darüber hinaus die biliäre Exkretion von ICG zu untersuchen.

Insgesamt wurden 46 Patienten nach Lebertransplantation in die Untersuchung aufgenommen. Bei allen Patienten wurde 12 Stunden nach Reperfusion des transplantierten Organs die PDR_{ICG} bestimmt und über die routinemäßig intraoperativ platzierte T-Drainage des Hauptgallengangs insgesamt über 3 Stunden fraktioniert die Galleflüssigkeit aufgefangen. Diese wurde in einem zweiten Arbeitsgang laborchemisch auf ihre ICG-Konzentration untersucht. Des Weiteren wurden verschiedene Labor- und Vitalparameter sowie intensivmedizinische Scores der ersten sieben postoperativen Tage ausgewertet.

Im 90-Tage-Nachbeobachtungszeitraum verstarben 5 Patienten, bei 8 kam es zu einem Transplantatverlust bzw. Patientenversterben. Signifikante Unterschiede bei den PDR_{ICG}-Werten bestand jeweils nicht (90-Tage-Überleben vs. Versterben: $21,0 \pm 12,24$ %/min vs. $16,8 \pm 7,17$ %/min; $p=0,583$). Auch zeigten sich keine Unterschiede bei den Leberlaborparametern wie z.B. Serumbilirubin. Dagegen hatten Patienten mit schlechtem Outcome jeweils signifikant niedrigere ICG-Spitzenkonzentrationen in der Galle (90-Tage-Überleben vs. Versterben: $268,1 \pm 212,17$ ng/ μ l vs. $55,2 \pm 72,82$ ng/ μ l; $p=0,038$) und der Quotient von biliärem Bilirubin zu Serumbilirubin war jeweils

signifikant niedriger (90-Tage-Überleben vs. Versterben: $85,6 \pm 92,41$ vs. $8,9 \pm 11,68$; $p=0,013$). Des Weiteren hatten Patienten mit schlechtem Outcome höhere intensivmedizinische Scores (APACHE II-Score, SOFA-Score, SAPS II). In der ROC-Analyse konnte sowohl die ICG-Spitzenkonzentration (AUC 0,785), der Quotient von biliärem Bilirubin/Serumbilirubin (AUC 0,836) und die intensivmedizinischen Scores gute Werte hinsichtlich Prognose der 90-Tage-Mortalitätswahrscheinlichkeit erzielen, die PDR_{ICG} zeigte sich als nicht geeignet (AUC 0,580).

Bei einer vorliegenden Early-Allograft-Dysfunktion (EAD) waren sowohl die PDR_{ICG} ($22,8 \pm 11,81$ %/min vs. $16,7 \pm 10,94$ %/min, $p=0,044$) als auch die biliäre ICG-Spitzenkonzentration ($305,9 \pm 201,64$ ng/ μ l vs. $140,8 \pm 192,44$ ng/ μ l; $p=0,01$) signifikant reduziert sowie die intensivmedizinischen Scores signifikant erhöht.

Aufgrund der gestörten Exkretion von ICG in die Galle bei teilweise ungestörter Extraktion aus dem Plasma (reflektiert durch die PDR_{ICG}) kann von einer Akkumulation in den Hepatozyten ausgegangen werden. Die im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens auftretenden Zytokin-getriggerten pathophysiologischen Veränderungen könnten einerseits durch die Störung des zellulären Energiestoffwechsels isoliert den ATP-verbrauchenden Prozess der ICG-Sekretion in die Galle beeinträchtigen, andererseits könnten die bereits laborexperimentell gezeigten differenzierten Expressionsveränderungen der Lebertransportproteine durch Herabregulierung der galleseitigen Membrantransporter bei normalen plasmaseitigen Transportern sowie strukturelle Veränderungen der kanalikulären Membran diese Ergebnisse erklären.

Es könnten also bei normalen oder nur gering reduzierten PDR_{ICG} -Werte bereits zu diesem frühen Zeitpunkt nach Transplantation Outcome-relevanten Beeinträchtigungen der exkretorischen Leberfunktion vorgelegen haben, und die PDR_{ICG} könnte im Kontext eines frühinflammatorischen Geschehens die Beeinträchtigung der Leberfunktion unterschätzen.

Den Ergebnissen dieser Arbeit zufolge sollten also auch normale oder gering reduzierte PDR_{ICG} -Werte kritisch im klinischen Kontext betrachtet werden, um eine eventuell bereits bestehende Leberfunktionsstörung nicht zu unterschätzen.

Die beschriebene Akkumulation von ICG in den Hepatozyten könnte auch für andere Xenobiotika zutreffen. Gerade im Rahmen intensivmedizinischer Betreuung könnte es durch die oftmals unumgängliche Polymedikation zu intrazellulären Anhäufungen der Medikamente mit unbekanntem Auswirkung kommen.

1 Einleitung

Ein möglichst schnelles und gutes Monitoring der Leberfunktion ist eine der Grundvoraussetzungen für die optimale postoperative Betreuung lebertransplantierter Patienten. Die Leber rückt aber auch als Immunorgan für den Verlauf und die Prognose kritisch kranker Patienten immer mehr in den Fokus, und das frühzeitige Detektieren einer Leberdysfunktion kann behandlungsentscheidend sein.

In den letzten Jahren hat sich die Erfassung der Indocyaningrün-Plasmaverschwinderate (PDR_{ICG}) zur Beurteilung der Leberfunktion aufgrund von Praktikabilität und geringer Zeitintensität als bettseitiger Test im klinischen Alltag etabliert.

Verschiedene klinische Untersuchungen an unterschiedlichen Patientenkollektiven haben gezeigt, dass dieses Verfahren eine hepatozelluläre Dysfunktion bereits zu einem frühen Zeitpunkt detektieren kann, darüber hinaus gut mit der Überlebensrate korreliert und als prognostischer Marker gegenüber den herkömmlichen statischen Laborparametern deutliche Vorteile besitzt (Sakka et al. 2002, Schneider et al. 2011).

Inzwischen haben sich aber – vor allem tierexperimentelle – Hinweise ergeben, dass die PDR_{ICG} unter frühinflammatorischen Bedingungen eine bereits bestehende Leberdysfunktion nicht ausreichend widerspiegeln kann (Stehr et al. 2005, Okabe et al. 2003).

Wir nehmen an, dass unter bestimmten pathophysiologischen Bedingungen wie z.B. in der Frühphase nach Lebertransplantation oder einer beginnenden Sepsis Indocyaningrün (ICG) zwar in die Hepatozyten aufgenommen wird, jedoch nicht über die Galle wieder eliminiert werden kann und damit die Bestimmung der PDR_{ICG} zur Therapiesteuerung und Prognoseeinschätzung unzuverlässig werden könnte.

In der vorliegenden Arbeit soll daher die klinische Bedeutung der hepatischen Indizyaningrün-Exkretion zur Beurteilung der hepatozellulären Dysfunktion unter frühinflammatorischen Bedingungen bei Patienten nach Lebertransplantation evaluiert und parallel die biliäre Exkretion von ICG ermittelt werden.

1.1 Lebertransplantation

1.1.1 Grundlagen der Lebertransplantation

Die erste Lebertransplantation am Menschen wurde 1963 von T.E. Starzl vorgenommen (Starzl et al. 1963). Seitdem durchlief sie große Entwicklungsstufen mit beständiger Ausweitung der Indikationen und deutlicher Verbesserung der klinischen Ergebnisse. So hat die Weiterentwicklung der chirurgischen Technik und der postoperativen Versorgung, Fortschritte in der Organkonservierung, Entwicklung von Immunsuppressiva – vor allem von Cyclosporin A und Tacrolimus –, die Bereitschaft zur Retransplantation nach Organversagen sowie das Erarbeiten von Kriterien zur Indikationsstellung zur Etablierung der Lebertransplantation als anerkannte Therapie einer Vielzahl fortgeschrittener Lebererkrankungen geführt (Land 2006). Heutzutage werden Überlebensraten nach 1 bzw. 5 Jahren von 82% bzw. 71% erreicht (Adam et al. 2012). Indikationen zur Lebertransplantation stellen chronische Lebererkrankungen wie z.B. eine primär biliäre Zirrhose, eine primär sklerosierende Cholangitis, Autoimmunhepatitiden, das hepatozelluläre Karzinom oder eine fortgeschrittene Leberzirrhose ebenso dar, wie auch ein akutes Leberversagen (Hakim und Danovitch 2001, ConsensusConference 2006, Adam et al. 2012). Medizinische Kriterien für die Leberallokation sind im Wesentlichen die Blutgruppe, Größe und Gewicht des Spenders und die medizinische Dringlichkeit (Bundesärztekammer 2013). Die Zuteilung der Organe über Eurotransplant erfolgt seit Ende 2006 anhand des Model of End Stage Liver Disease (MELD)-Scores (Gershwin et al. 2007).

Lebertransplantationen erfolgen in aller Regel orthotop, das heißt, das Spenderorgan wird an der gleichen anatomischen Stelle implantiert, an der das ursprüngliche Organ lag (Hakim und Danovitch 2001).

1.1.2 Transplantatdysfunktion nach Lebertransplantation

Nach erfolgter Organtransplantation kann es zu verschiedenen Zeitpunkten in der postoperativen Phase zu Transplantatdysfunktionen unterschiedlichster Genese kommen, die sich einheitlich durch Anstieg der Leberenzyme, Abnahme der Galleproduktion und einen Abfall hepatischer Syntheseparameter äußern (Neuhaus et al. 2005).

Eine unmittelbar nach der Transplantation in 2-8% der Fälle auftretende Komplikation stellt die initiale Nichtfunktion dar. Hierbei handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen, bei dem die Summation der schädigenden Einflüsse während der Spenderleberentnahme, Konservierung und Organreperfusion die wesentliche Rolle spielt. Eine umgehende Retransplantation ist die einzig wirksame Therapie (Torres-Quevedo et al. 2009). Weiterhin kann es vor allem in den ersten Tagen nach Transplantation zu akuten vaskulären Komplikationen wie der Thrombose der Arteria hepatica (ca. 5% der Fälle) oder der Pfortaderthrombose (ca. 2% der Fälle) kommen. Risikofaktoren dafür stellen vor allem technische Probleme bei Anastomosierung, lange kalte Ischämiezeiten und Hyperkoagulabilität des Empfängers dar. Falls eine Revaskularisierung nicht durchgeführt werden kann oder erfolglos bleibt, ist die Retransplantation indiziert (Duffy et al. 2009).

Eine weitere Gefahr stellen Abstoßungsreaktionen dar, wobei diese in hyperakute, akute und chronische Abstoßungen unterteilt werden können (Land 2006). Die hyperakute Abstoßung ist ein seltenes Ereignis und wird durch präformierte Antikörper bei ABO-Inkompatibilität ausgelöst (Rydberg 2001). Akute Abstoßungsreaktionen treten mit einer Inzidenz von 20-40% auf und können mittels einer Leberbiopsie histologisch verifiziert werden. Klinisch imponieren vor allem Transaminasen- und Cholestaseparameteranstiege, Schwellung des Transplantates, die Erhöhung des Gefäßwiderstandes und Fieber. Therapeutisch wird angestrebt, über eine Steroidstoßtherapie und durch die Erhöhung bzw. Umstellung der Immunsuppression die zugrunde liegende überschießende Immunreaktion zu unterdrücken (Molinari et al. 2009). Chronische Abstoßungsreaktionen treten meist erst nach 6 Monaten postoperativ auf und sind durch einen schleichenden Beginn gekennzeichnet. Histologisch zeigen sich vor allem der Verlust der kleinen Gallengänge und eine obliterative Angiopathie. Bei progredientem Verlauf kann eine Retransplantation nötig werden (Desley und Stefan 2002).

Gallenwegskomplikationen nach Lebertransplantation stellen eine sehr wichtige Komplikationsform mit Inzidenzen zwischen 2,3-50% dar. In der Frühphase spielen vor allem Galleleckagen durch Anastomoseninsuffizienzen und im späten Verlauf sich entwickelnde Gallengangsstenosen eine tragende Rolle (Stratta et al. 1989, Moser und Wall 2001). Bei der in 3-20% auftretenden Ischemic type biliary lesion (ITBL) kommt es zu einer progredienten Zerstörung des Gallenwegssystems mit u.a. Nekrosen,

Strikturen und Steinbildungen, die bis zum Organverlust führen können (Christoph et al. 2010, Langrehr et al. 1998).

1.1.3 Inflammationsrelevante Veränderungen nach Lebertransplantation

In der frühen postoperativen Phase nach einer Lebertransplantation treten im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens pathophysiologische Reaktionen und Muster auf, wie sie auch in der frühinflammatorischen Phase einer systemischen Entzündungsreaktion zu finden sind. So kommt es nach Transplantation einer homologen Spenderleber zu einer Endotoxinämie, die bis zu 7 Tage postoperativ anhalten kann (Abdala et al. 2007, Pillay et al. 1997). Auch werden typisch entzündliche Zytokinmuster gefunden. Hierbei sind unter anderen die Interleukine 1 β , 6, 8 und 10 bis zu 24 Stunden nach Reperfusion des transplantierten Organs signifikant erhöht (Mueller et al. 1996, Kotsch et al. 2008).

1.2 Lebermonitoring mittels der PDR_{ICG}

In der modernen Medizin kommt dem Lebermonitoring eine wichtige Rolle sowohl in der Prognoseabschätzung verschiedener Patientengruppen als auch in der spezifischen Therapieplanung zu. Traditionell stehen hierfür statische Tests, wie die Bestimmung der Leberenzyme im Serum, die Bestimmung verschiedener Syntheseparameter und die Ermittlung des Serumbilirubins zur Verfügung. Allesamt sind weit verbreitet und aus der klinischen Praxis nicht wegzudenken. Trotzdem erlauben sie nur einen sehr begrenzten Blick auf die Leberfunktion, sind durch Substitutionsbehandlungen von Blutbestandteilen – wie sie bei intensivbehandlungspflichtigen Patienten häufig sind – beeinflussbar und in ihrer zeitlichen Dynamik träge.

Gerade aber in der Behandlung solcher Patienten ist das frühzeitige sowie rasche Erkennen von Leberfunktionsstörungen vonnöten. Hierfür haben sich verschiedene dynamische Funktionstests als nützlich erwiesen. Zu diesen gehört auch die Bestimmung der Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün.

1.2.1 Indocyaningrün (ICG)

Indocyaningrün (ICG) ist ein wasserlöslicher Tricarbocyanin-Farbstoff ($C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$) mit einem Molekulargewicht von 775 Dalton (Fox et al. 1956). Die Strukturformel ist in Abbildung 1 dargestellt.

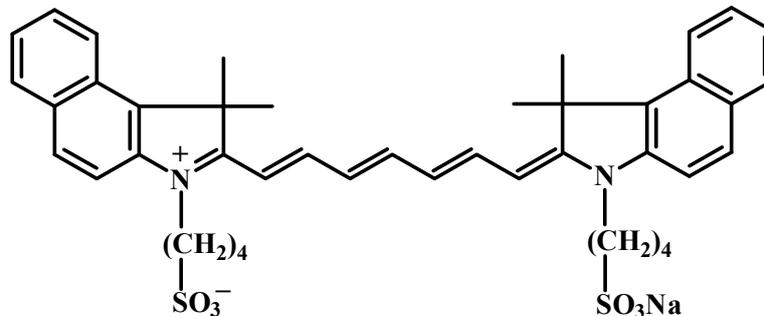


Abbildung 1 : Strukturformel ICG

Schematische Darstellung der chemischen Strukturformel von ICG

1957 in den medizinischen Gebrauch eingeführt, wurde es schnell aufgrund seiner vorteilhaften Absorptionseigenschaften im infraroten Bereich, die eine optische Vermessung im Blut unabhängig vom Sauerstoff-Sättigungsgrad erlaubten, ein häufig genutztes Diagnostikum der Kardiologie z.B. zur Bestimmung des Herzzeitvolumens (Fox et al. 1957). Dank der exklusiven Rolle der Leber bei der Eliminierung des Farbstoffes fand ICG auch bald Eingang in die Hepatologie für verschiedene Funktionstests (siehe unten) (Cherrick et al. 1960). Im weiteren Verlauf konnte die Verwendung von ICG in verschiedenen Fachgebieten etabliert werden.

Heutzutage wird ICG vor allem eingesetzt für:

Herz-, Kreislauf- und Mikrozirkulationsdiagnostik

- Messung des Herzzeitvolumens und des Schlagvolumens
- Messung der zirkulierenden Blutvolumina
- Messungen der zerebralen Durchblutung

Leberfunktionsdiagnostik

- Messung der Leberdurchblutung
- Abschätzung der exkretorischen Leberfunktion
- Ermittlung der Transplantatfunktion

Ophthalmologische Angiographie

- Messungen der Aderhautdurchblutung

(ICG-Pulsion®-Arzneimittelinformation 2000)

Indocyaningrün hat sein Absorptionsmaximum bei 790-805nm (Abbildung 2), wobei dieses sowohl von der Farbstoffkonzentration als auch von den Eigenschaften des Lösungsmediums abhängig ist (Landsman et al. 1976, Prahl 1998). Intravenös verabreichtes ICG bindet fast vollständig an Plasmaproteine, vor allem an beta-Apolipoprotein B (95%), verbleibt dadurch nahezu komplett intravasal und verteilt sich gleichmäßig im gesamten Blut. Es unterliegt keinem enterohepatischen Kreislauf und wird ausschließlich über die Leber eliminiert. Die Ausscheidung erfolgt biphasisch, wobei im gesunden Menschen die erste Halbwertszeit bei 3-4 Minuten und eine zweite dosisabhängige Halbwertszeit bei ca. 60-80 Minuten liegt (Meijer et al. 1988, ICG-Pulsion®-Arzneimittelinformation 2000).

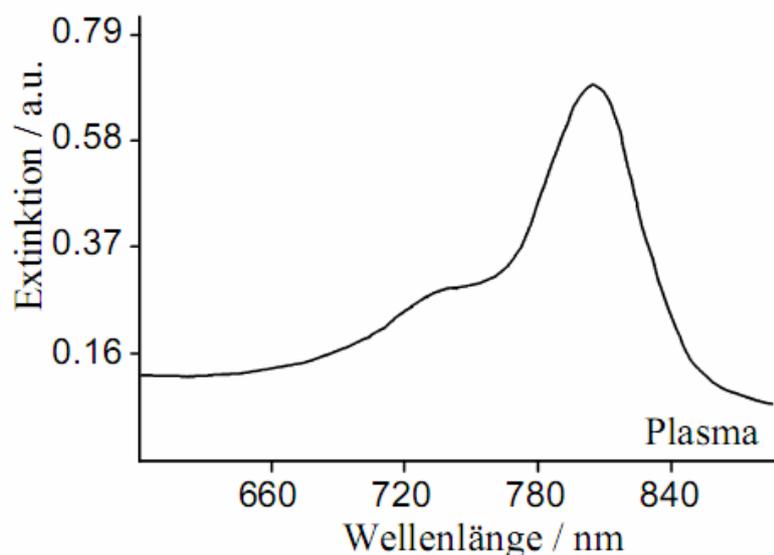


Abbildung 2 : Plasma-Extinktionskurve von ICG

Darstellung der Extinktion von ICG in humanem Plasma in Abhängigkeit von der Wellenlänge

ICG ist nicht-toxisch und hat eine geringe Inzidenz an unerwünschten Nebenwirkungen (Carski et al. 1978, Benya et al. 1989, Cherrick et al. 1960, Hopeross et al. 1994). Unerwünschte Arzneimittelwirkungen sind hauptsächlich auf das in der Darreichungsform enthaltene Natriumjodid zurückzuführen. Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz sind häufiger betroffen. (ICG-Pulsion®-Arzneimittelinformation 2000, Benya et al. 1989).

Die in der Leberfunktionsdiagnostik übliche Dosierung ist mit 0,5 mg/kg Körpergewicht angegeben (ICG-Pulsion®-Arzneimittelinformation 2000). Studien konnten

zeigen, dass sowohl reduzierte Dosierungen (0,25 mg/kg KG) suffiziente Messergebnisse liefern (Sakka et al. 2004), als auch höhere Dosierungen (2,0 mg/kg KG) gut toleriert werden (Meijer et al. 1988). Bei Erwachsenen sollte eine tägliche Gesamtdosis von 5 mg/kg KG nicht überschritten werden (ICG-Pulsion®-Arzneimittelinformation 2000).

ICG ist in wässriger Lösung nicht stabil. Es kommt zu physikochemischen Transformationen wie Aggregation und Degradation, welche sich durch Entfärbung, verminderte Absorbanz sowie einer Verlagerung des Absorptionsmaximums des Farbstoffes äußern (Bjornsson et al. 1982, Holzer et al. 1998). Die Stabilität hängt sowohl von der Konzentration des Farbstoffes sowie vom verwendeten Lösungsmittel ab (Bjornsson et al. 1982, Landsman et al. 1976). In Dunkelheit, höheren ICG-Konzentrationen sowie bei niedrigen Temperaturen verläuft der Zerfall langsamer (Vishal et al. 2003). In Blut sowie Galle verhält sich ICG stabil (Bjornsson et al. 1982).

1.2.2 PDR_{ICG}

Die Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün („Plasma-disappearance-rate“- PDR_{ICG}) gibt den prozentualen Anteil des injizierten Farbstoffes ICG an, der pro Minute aus dem zirkulierenden Blutvolumen entfernt wird (%/min). Hierfür werden im Vergleich zu anderen vergleichbaren Messwerten (ICG-Clearance) keine absoluten Stoffkonzentrationen benötigt. Ebenso ist ein nicht-invasives Vorgehen durch die Etablierung eines transkutanen Messsystems mittels Fingerclip-Sensor möglich, was die PDR_{ICG} -Messung als klinischen Bedside-Test sehr geeignet macht.

Für die Messung erfolgt über einen intravenösen Zugang eine Bolusinjektion des Farbstoffes ICG und anschließend wird per Fingerclip-Sensor (LiMON Pulsion®, Pulsion Medical Systems, München) die PDR_{ICG} bestimmt.

Das Prinzip des Messverfahrens beruht auf der Pulsdensitometrie, die auf der 1972 von Takuo Aoyagi eingeführten Pulsoxymetrie basiert (Fresenius und Heck 2006). Ausgehend vom Lambert-Beer-Gesetz, das den Zusammenhang zwischen der Absorption von monochromatischem Licht und der Konzentration eines absorbierenden Inhaltsstoffs in Flüssigkeiten beschreibt (Lewandowski et al. 1997), wird anhand zweier Wellenlängen (805nm und 905nm) – mit pulsatilen und nicht pulsatilen Anteilen – ein Absorptionsverhältnis ermittelt, aus welchem die Konzentration von ICG berechnet werden kann.

$$C_{ICG} = \frac{\frac{pulsatil_{905nm}}{nicht\ pulsatil_{905nm}}}{\frac{pulsatil_{805nm}}{nicht\ pulsatil_{805nm}}}$$

Formel 1: ICG-Konzentration

Da die Elimination von ICG einer Kinetik erster Ordnung folgt, verhält sich die Geschwindigkeit der Abnahme der ICG-Plasmakonzentration proportional zur ICG-Plasmakonzentration. Dieser zeitliche Verlauf lässt sich mathematisch als Exponentialfunktion beschreiben, mit deren Hilfe eine typische Indikatorverdünnungskurve erstellt werden kann. Per Rückextrapolation wird die Ausgangskonzentration des Farbstoffes im Serum ermittelt und die Plasmaverschwinderate über $PDR_{ICG} = \ln 2 / t_{1/2} \cdot 100$ berechnet (LIMON-Pulsion®Fachinformationen 2002). In Abbildung 3 ist dies grafisch dargestellt.

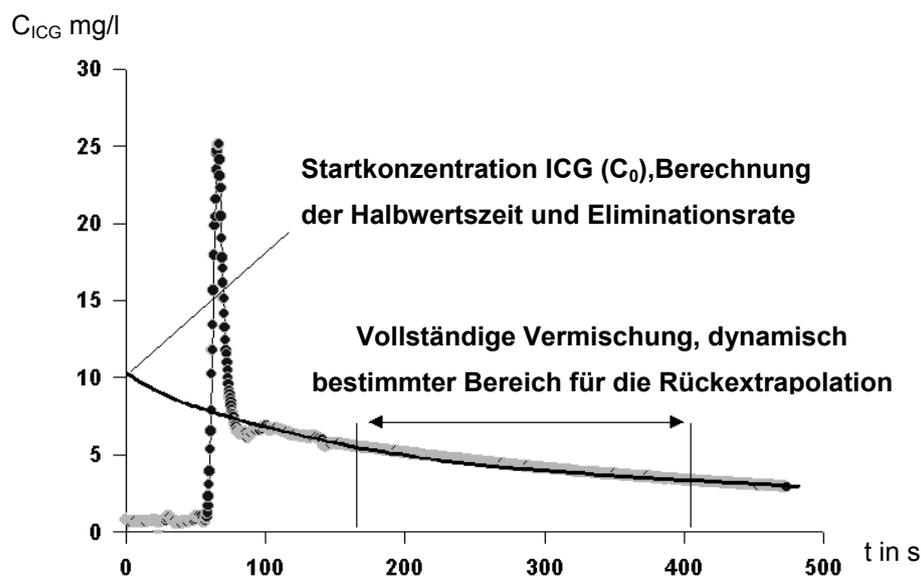


Abbildung 3 : Dilutionskurve ICG in Plasma

Dilutionskurve für ICG während der Durchmischungszeit, aufgezeichnet mittels LiMON Pulsion®, Pulsion Medical Systems, München. Ab dem Zeitpunkt der vollständigen Durchmischung des Indikators wurde die Konzentrations-/Zeit-Kurve für die Rückextrapolation der ICG Konzentration zum Startzeitpunkt der Injektion (C_0) aufgezeichnet. (LIMON-Pulsion®Fachinformationen 2002)

Als Normalwerte bei gesunden Erwachsenen gelten 18–25 %/min, Werte unter 16 %/min werden als kritische Schwelle für die Leberfunktion angesehen (Faybik et al. 2004).

Die Bestimmung der PDR_{ICG} zum hepatozellulären Funktionsmonitoring hat sich bisher bei Patienten nach Lebertransplantation, der präoperativen Einschätzung der Leberfunktion, der Überwachung kritisch kranker Patienten nach Trauma, Schock oder Sepsis sowie zur Prognosebeurteilung solcher Patienten durchgesetzt (Kimura et al. 2001, Olmedilla et al. 2009, Sakka et al. 2002, Tsubono et al. 1996). In verschiedenen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die PDR_{ICG} komplexen Scoresystemen zur Beurteilung kritisch kranker Patienten wie z.B. dem APACHE II-Score und dem SAPS II ebenbürtig ist (Inal et al. 2009, Sakka und Meier-Hellmann 2002), und Leberdysfunktionen eher aufgezeigt werden können als über die Bestimmung des Serumbilirubins (Sakka et al. 2002). Inal et al. und Kortgen et al. zeigten, dass Sepsis-Patienten mit einer niedrigen PDR_{ICG} eine signifikant höhere Sterblichkeit hatten, als Patienten mit höheren PDR_{ICG} -Werten. Ihr Cutoff-Point lag dabei bei 14,6 %/min bei einer AUC von 0,765 bzw. bei 8 %/min mit einer AUC von 0,81 (Inal et al. 2009, Kortgen et al. 2009).

Dem entgegen existieren aber auch Daten, die nahe legen, dass die Aussagekraft der PDR_{ICG} vor allem in der frühinflammatorischen Phase eines septischen Geschehens kritisch zu betrachten ist. Stehr et al. demonstrierten in einem Tiermodell, dass 12 Stunden nach Endotoxingabe die biliäre ICG-Exkretion fast vollständig sistierte, währenddessen die gemessene PDR_{ICG} keine Veränderung anzeigte (Stehr et al. 2005).

Während für die Entfernung von ICG aus dem Blut die Perfusion der Leber und die Aufnahme des Farbstoffes durch die Hepatozyten die tragende Rolle spielen, sind für die schlussendliche Ausscheidung des Xenobiotikums aus dem Organismus auch dessen intrazellulärer Transport und seine Exkretion in die Galle entscheidende Vorgänge. Die PDR_{ICG} kann verfahrensgemäß nur den erstgenannten Schritt reflektieren und somit nicht den gesamten Exkretionsvorgang widerspiegeln. Eventuell isoliert auftretende Störungen der exkretorischen Leberfunktion wie z.B. durch spezifisch-pathologische Transporterregulierungen können also nicht erfasst werden. Hierfür ist die Gewinnung von Galle essentiell. Diese wurde in dieser Arbeit über die im Rahmen der Lebertransplantation eingelegte T-Drainage gewonnen und später laborchemisch ausgemessen.

1.3 Hepato-biliäre Transportsysteme

1.3.1 Grundlagen der hepato-biliären Transportsysteme

Für die komplexen Stoffwechsel- und Ausscheidungsvorgänge in der Leber spielen hepatozelluläre Transporter eine wichtige Rolle. Dies sind einerseits die so genannten basolateralen bzw. sinusoidalen Transportsysteme, die in der der Blutbahn zugewandten Zellmembran lokalisiert sind, und andererseits die in dem der Galle zugewandten so genannten kanalikulären bzw. apikalen Pol vorhandenen Transporter. Diese Transporter sind an der Aufnahme verschiedener endogener Substanzen aus dem Blut, wie z.B. Gallensäuren, Bilirubin und Steroidhormonen und deren Exkretion ebenso beteiligt wie an den entsprechenden Transportvorgängen vieler exogen zugeführter Medikamente und Xenobiotika. Die basolateralen Transportsysteme, die der Aufnahme von Substanzen in die Hepatozyten dienen, arbeiten energieunabhängig entlang eines Konzentrationsgradienten. Zu ihnen gehört der leberspezifische hochaffine Na^+ -abhängige Gallensalztransporter „ Na^+ -Taurocholate Cotransporting Polypeptide“ (NTCP), der nur die physiologisch vorkommenden Gallensalze und Gallensalzderivate in den Hepatozyten transportiert, sowie die Familie der „Organic Anion Transporting Polypeptides“ (OATP), die einen Na^+ -unabhängigen Transport von Gallensalzen und einer breiten Palette organischer Anionen vermitteln. Des Weiteren existieren spezifische Transporter für organische Kationen (OCT). Auch die ATP-abhängigen „Multidrug resistance-associated proteins“ MRP1 und MRP3 sind in der sinusoidalen Membran lokalisiert. Sie sind unter physiologischen Bedingungen nur gering exprimiert, jedoch stark induzierbar während Leberregenerationsvorgängen bzw. Cholestase und fungieren als sog. „Überlaufcarrier“.

Die kanalikuläre Sekretion stellt beim hepato-biliären Transport von Substanzen den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt dar und wird durch ATP-abhängige Effluxpumpen gegen einen Konzentrationsgradienten bewerkstelligt. Dazu gehört der primäre Transporter für Gallensalze „Bile salt export pump“ (BSEP), MRP2 als multispezifischer Transporter für organische Anionen, die Xenobiotika-Pumpe „Multidrug resistance protein 1“ (MDR1) für amphiphile Kationen und neutrale Verbindungen wie auch der Phospholipid-Transporter MDR3, das „Breast cancer resistance protein“ (BCRP) und der Anionenexporter „Anion exchange protein 2“ (AE2), welcher den gallesalzunabhängigen Gallefluss stimuliert (Faber et al. 2003, Recknagel 2006). Abbildung 4 stellt die wichtigsten Transporter schematisch dar.

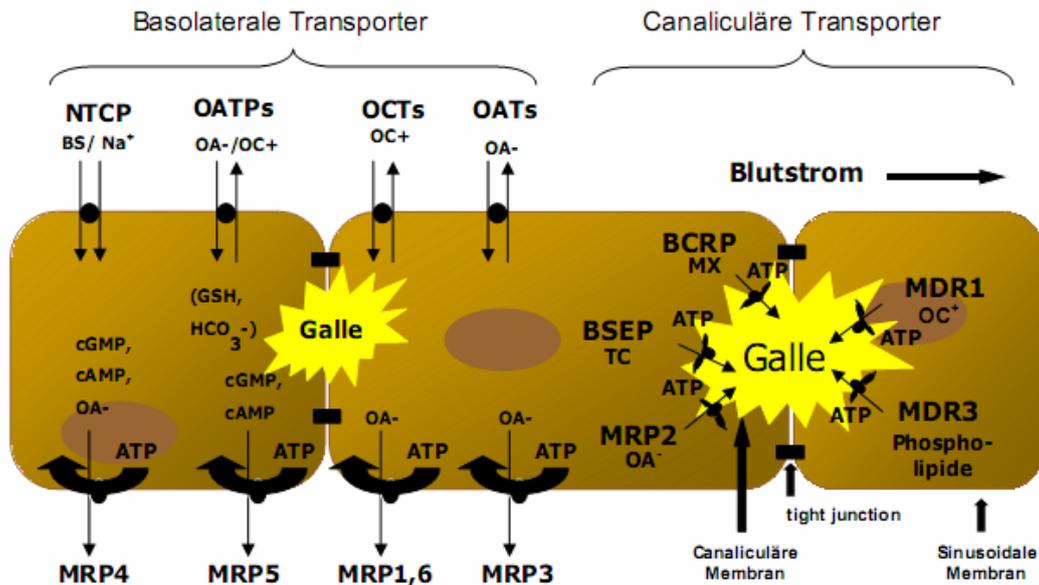


Abbildung 4: Schematische Darstellung hepatischer basolateraler und kanalikulärer Transporter

Humane hepatische basolaterale (links) und kanalikuläre (rechts) Transporterproteine. Schematische Darstellung von drei aneinandergrenzenden Hepatozyten mit kanalikulären Verbindungsräumen, die durch tight junctions abgedichtet sind. Die Transportproteine sind mit Pfeilen gekennzeichnet, die einerseits die Richtung des Transportes, typische Substrate sowie die ATP-Abhängigkeit des Transports angeben. OA-, organische Anionen; OC+, organische Kationen; cAMP, cyclisches Adenosin-Monophosphat; cGMP, cyclisches Guanosin-Monophosphat; TC, Taurocholat; MX, Mitoxantron; BS, Gallensalze (Recknagel 2006)

Nach aktuellem Kenntnisstand ist der ATP-unabhängige Transporter OATP1 entscheidend für die Elimination von ICG aus dem Blut verantwortlich (Lund et al. 1999). Die kanalikuläre Sekretion erfolgt dagegen über MDR3 (Huang und Vore 2001). Somit stellt die Exkretion von ICG in die Galle, wie in Abbildung 5 dargestellt, einen ATP-abhängigen Vorgang dar und ist demzufolge vom Energiestatus der Leber abhängig (Chijiwa et al. 2002). Allerdings werden sowohl für die sinusoidale sowie die apikale Sekretion weitere alternative ICG-Transporter vermutet. Für den intrazellulären Transport von ICG wird sowohl der membrangebundene Weg als auch ein vesikulärer Transport entlang des Zytoskeletts angenommen. (Ott 1998, Sathirakul et al. 1993). Beide Mechanismen arbeiten ATP verbrauchend.

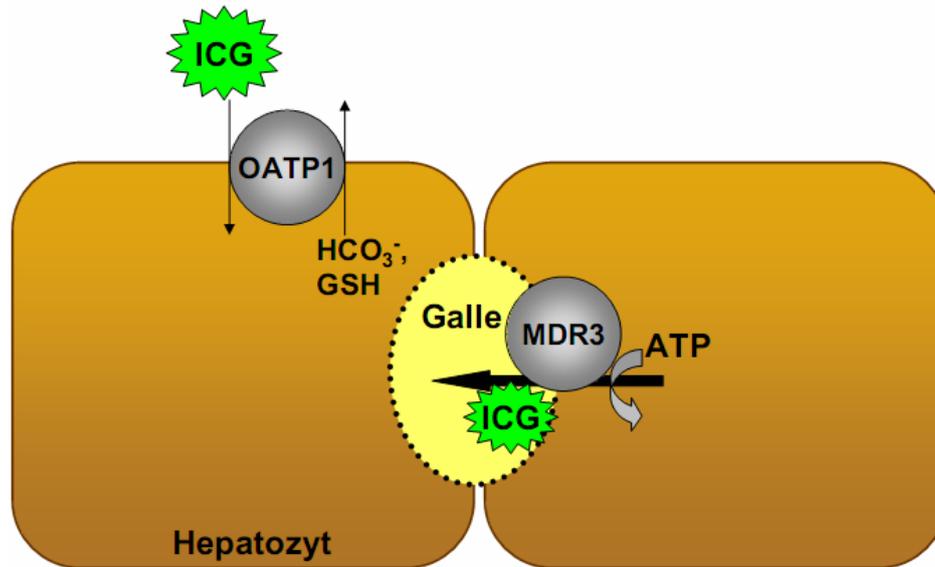


Abbildung 5 : ICG-Transporter im Hepatozyten

Humane hepatische basolaterale (oben) und kanalikuläre (Mitte) ICG-relevante Transporterproteine. Schematische Darstellung von 2 aneinandergrenzenden Hepatozyten. Die Transportproteine sind mit Pfeilen gekennzeichnet, die einerseits die Richtung des Transportes, typische Substrate sowie die ATP-Abhängigkeit des Transports angeben, HCO_3^- , Hydrogencarbonat; GSH, Glutathion

Bilirubin – u.a. ein traditioneller Labormarker bei Lebertransportstörungen –, das hochaffin an Albumin im Blut bindet, wird überwiegend von dem basolateralen Transporter OATP2 in den Hepatozyten transportiert (Cui et al. 2001). Dort wird es von der UDP-Glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) zu Monoglucuronosyl-Bilirubin und Bisglucuronosyl-Bilirubin konjugiert. Die ATP-abhängige MRP2-Pumpe transportiert das glucuronidierte Bilirubin über die kanalikuläre Membran in das Gallengangssystem (Jedlitschky et al. 1997).

1.3.2 ICG-Eliminationsrelevante pathophysiologisch-inflammatorische Transporterregulierungen

Die hepatobiliären Transportproteine unterliegen einer komplexen Regulierung, die sich sowohl auf transkriptioneller als auch auf posttranskriptioneller Ebene abspielt. Verschiedene Faktoren können die Expression der membrangebundenen Transporter beeinflussen. So kommt es unter cholestatischen Bedingungen zur verminderten ICG-Elimination aus dem Blut sowie zu einer verminderten Ausscheidung in die Galle, was in beiden Fällen auf eine reduzierte Anzahl der spezifischen Transportproteine

zurückzuführen ist (Sathirakul et al. 1993). Verschiedene Arbeiten zeigen, dass inflammationsrelevante Mediatoren wie LPS, IL-6 oder IL-1 β eine Herunterregulierung der ICG-Transporter mit einhergehender verminderter ICG-Elimination und Ausscheidung bewirken (Lund et al. 1999, Hartmann et al. 2001, Bolder et al. 1997, Beno et al. 2001, Hartmann et al. 2002). Für TNF- α hingegen wird kein direkter Einfluss auf die Ausscheidung von ICG angenommen (Lund et al. 1999). Neuere Daten deuten jedoch auf eine – vor allem in der frühinflammatorischen Phase – differenziertere Regulation der basolateralen und kanalikulären Transporter hin (Stehr et al. 2005). Kortgen et al. haben gezeigt, dass die Genexpression des sinusoidalen ICG-Transporters OATP1 nach Zytokin-Stimulation sogar hoch reguliert wurde, während die Expressionsrate der apikalen Pumpe MDR3 vermindert war (Kortgen et al. 2009).

Auch die prototypischen Bilirubin Transporter OATP2 und MRP2 unterliegen solchen Regulierungen. So ist die Transkriptionsrate von OATP2 unter septischen Bedingungen eher vermindert. Auch die Anzahl des kanalikulären Bilirubintransporters MRP2 ist nach Endotoxin- und Zytokinstimulation stark herabgesetzt (Recknagel 2006, Zollner et al. 2001, Hartmann et al. 2002, Trauner et al. 2005). Die Regulierung hierfür findet vor allem postranskriptionell statt (Zollner et al. 2001).

2 Ziele der Arbeit

Die Lebertransplantation hat sich als therapeutische Option einer Vielzahl von Lebererkrankungen etabliert. Zur optimalen Therapie gehört auch eine möglichst frühzeitige Detektierung eventueller Komplikationen und Organdysfunktionen. Des Weiteren spielt die Dysfunktion der Leber auch bei kritisch kranken Patienten eine große Rolle und gerät immer mehr in den Blickpunkt (Kramer et al. 2007). Unter allen Umständen ist eine erfolgreiche Therapie nur mit guten diagnostischen Mitteln durchführbar. Die klassischen Leberparameter wie die Bestimmung von Serumbilirubin, Detektierung einer Transaminasenerhöhung und veränderte Lebersyntheseparameter haben sich hierfür als ungeeignet erwiesen. Sie treten verzögert auf und zeigen erst bei schon manifesten Leberzellschädigungen entscheidende Veränderungen (Gonnert et al. 2012, Kortgen et al. 2010).

Neuere, so genannte dynamische Leberfunktionstest, wie z.B. die Bestimmung der PDR_{ICG} , können dagegen bereits frühzeitig Schädigungen erkennen und erlauben Prognoseabschätzungen (Sakka et al. 2002, Olmedilla et al. 2009). Die Bestimmung der PDR_{ICG} hat sich klinisch etabliert und ihre Wertigkeit wurde in mehreren Studien bestätigt (Inal et al. 2009, Kimura et al. 2001, Sakka et al. 2002, Olmedilla et al. 2009, Kortgen et al. 2009).

Es gibt aber auch – tierexperimentell erbrachte – Hinweise, dass die tatsächliche Störung der Exkretionsleitung der Leber in der frühinflammatorischen Phase z.B. eines endotoxämischen Geschehens unterschätzt werden kann. So wurde eine gestörte biliäre Exkretion des Farbstoffes ICG bei noch normalen PDR_{ICG} -Werten aufgezeigt (Stehr et al. 2005, Okabe et al. 2003). Vergleichbare Daten zum Verhältnis der PDR_{ICG} und der biliären Ausscheidung des Indikatorfarbstoffes für den Menschen existieren bislang kaum.

Vor diesem Hintergrund soll in der vorliegenden Arbeit die klinische Wertigkeit der PDR_{ICG} unter frühinflammatorischen Bedingungen anhand lebertransplantierten Patienten evaluiert und die biliäre Exkretion von ICG unter diesen Umständen untersucht werden.

Im Einzelnen heißt das:

- Kann die PDR_{ICG} in der frühen Phase nach Lebertransplantation eine Leberschädigung aufzeigen sowie eine Prognoseabschätzung ermöglichen?
- Kann die Messung der biliären Konzentration von ICG nach intravenöser Gabe des Farbstoffes zusätzliche Informationen liefern?
- Welche anderen diagnostischen Mittel, wie z.B. die Verwendung von Score-Systemen oder die Messung von Bilirubinkonzentrationen in der Galle, können sich als nützlich erweisen?

3 Methoden

3.1 Klinischer Rahmen

Die vorliegende prospektive Untersuchung wurde in dem Zeitraum von September 2007 bis August 2009 an lebertransplantierten Patienten der Universitätsklinik Jena durchgeführt.

Alle Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Routinediagnostik und mit Genehmigung der zuständigen Ethikkommission und dem Einverständnis der Patienten bzw. ihrer nächsten Angehörigen.

3.1.1 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 46 Patienten in diese Arbeit eingeschlossen. Die Gruppe teilte sich in 34 männliche (74%) und 12 weibliche (26%) Probanden auf. Das mittlere Alter betrug 55 ± 8 Jahre und der Altersmedian lag bei 57 Jahren. Von 36 der 46 Patienten konnten die Daten zur biliären Exkretion von ICG gewonnen werden und somit zur Bearbeitung der Hauptfragestellung herangezogen werden.

Die Untersuchung und Behandlung der Patienten erfolgte in der frühen postoperativen Phase auf der operativen Intensivstation.

3.1.2 Ausschlusskriterien

Nicht mit in die Untersuchung eingeschlossen wurden Patienten, die ihr Einverständnis verweigerten, Patienten, bei denen kein valides Signal zur PDR_{ICG} -Messung ableitbar war, Patienten unter laufender Hämodiafiltration und Patienten ohne Gallengangsdrainage bzw. mit einem anderem Drainage System als einer T-Drainage.

3.1.3 Therapieschema

Alle Patienten wurden mit einem Quadruple-Schema zur Immunsuppression bestehend aus Basiliximab, Prednisolon, Tacrolimus und Mycophenolat-Mofetil behandelt. Die normale antibiotische Prophylaxe erfolgte mit Ceftriaxon, Metronidazol, Cotrimoxazol

sowie im Verlauf mit Ciprofloxazin, wobei es bei einzelnen Patienten durch vorbestehende Infektionen und Resistenzen auch zu abweichenden Antibiotika-Therapien kommen konnte. Die antivirale Prophylaxe erfolgte mit Aciclovir, beim Vorliegen einer CMV-Risikokonstellation (Spender positiv; Empfänger negativ) wurde diese durch Valganciclovir (für drei Monate) und Cytomegalie-Immunglobulin (an den postoperativen Tagen 1, 8, 15 und 22) ergänzt.

3.1.4 Laborschema

Die verwendeten Laborparameter entstammten alle dem Routinelaborprogramm für lebertransplantierte Patienten für die Tage 0-7 nach OP.

Dieses enthielt:

- kleines Blutbild (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCH, MCV, MCHC)
- Na, K, Cl, Gesamteiweiß, Albumin, Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Phosphat, Gesamt-Bilirubin, CRP, Cholesterin, Triglyceride, ASAT, ALAT, GLDH, AP, CHE, GGT, Lipase, KOD-PL, PCT
- Quick, APTT, Fibrinogen, AT3, Faktor V
- Plasma-Glucose, Laktat
- Ammoniak
- Sammelurin : Kreatinin-Clearance, K, Na, Gesamt-Eiweiß
- Tacrolimus-Blutspiegelbestimmung ab dem 3. postoperativen Tag

3.1.5 Intensivmedizinisches Monitoring

Im Rahmen der intensivmedizinischen Überwachung wurden Körpertemperatur, kontinuierliche arterielle Blutdruckmessung, ZVD, EKG-Monitoring mit Herzfrequenzmessung, Pulsoximetrie sowie Flüssigkeitsein- und -ausfuhr protokolliert. Alle verwendeten Daten und Parameter wurden, wenn nicht anders beschrieben, zum Zeitpunkt der PDR_{ICG} Messung im Rahmen der vorliegenden Arbeit protokolliert. In Fällen einer maschinellen Beatmung sowie einer Dialysebehandlung wurden die den üblichen Standards entsprechenden Werte aufgezeichnet.

Des Weiteren wurden der Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)-Score, der Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II (APACHE II)-Score und Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) routinemäßig erhoben und für die ersten drei postoperativen Tagen (SOFA-Score) bzw. den ersten postoperativen Tag (APACHE II-Score und SAPS II) ausgewertet.

Als erweitertes intensivmedizinisches Monitoring wurde, wie auf der Intensivstation nach Lebertransplantation üblich, die PDR_{ICG} 12 Stunden nach Organreperfusion bestimmt.

3.1.6 Bestimmung der Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün (PDR_{ICG})

Zur Bestimmung der Plasmaverschwinderate von Indocyaningrün (PDR_{ICG}) wurden jedem Patienten 50 mg ICG (ICG-Pulsion®, Pulsion Medical Systems, München) als wässrige Lösung (Ampuwa) im Bolus i.v. verabreicht (siehe 5.1.2.2). Mittels transkutaner Messung (LiMON Pulsion®, Pulsion Medical Systems, München) wurde die PDR_{ICG} ermittelt.

Die Bestimmung der PDR_{ICG} erfolgte erstmals 12 Stunden nach Reperfusion des transplantierten Organs. Dieser Wert diente als Referenzwert für die vorliegende Untersuchung. Weitere PDR_{ICG} -Messungen wurden patientenindividuell in ein- bis mehrtägigen Intervallen vom Personal der Intensivstation durchgeführt.

3.1.7 Intensivmedizinische Interventionen

Bei einigen Patienten war ein erweitertes intensivmedizinisches Vorgehen nötig. Dazu zählten kreislaufunterstützende Maßnahmen durch Katecholamingabe, Substitution von Gerinnungsprodukten mittels Thrombozytenkonzentraten, Fresh Frozen Plasma (FFP) und Prothrombinkomplexpräparaten (PPSP), Erythrozytenkonzentratgaben, maschinelle Beatmung und Dialysebehandlung.

3.1.8 T-Drainage

Bei allen Patienten wurde im Rahmen der Lebertransplantation eine so genannte T-Drainage (T-Rohr, Teleflex Medical GmbH, Kernen, Deutschland) in den Hauptgallengang zur Ableitung der Gallenflüssigkeit implantiert und zur Bauchwand ausgeleitet.

Über diese Drainage konnten die Galleproben nach ICG-Applikation, zeitparallel zur PDR_{ICG} -Messung, in 5-10-minütigen Abständen entnommen und in wiederverschließbaren Eppendorf Tubes (Eppendorf Safe-Lock micro test tubes, 1.5ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) asserviert werden. Vor der ICG-Injektion wurde jeweils eine „blanke Galle“ als Referenzmaterial für die spätere Auswertung aufgefangen. Außerdem wurde die täglich im Drainagebeutel gesammelte Gallenmenge protokolliert und die Bilirubinkonzentration in der täglich aufgefangenen Galle bestimmt.

3.1.9 Endpunkte der Studie

Als primärer Endpunkt der Untersuchung wurden das 90-Tage Überleben der Patienten und als sekundäre Endpunkte das Transplantatüberleben nach 90-Tagen sowie eine Early Allograft Dysfunction (EAD) definiert.

Versterben der Patienten im Zeitraum von 90 Tagen nach der Transplantations-OP bzw. der Organverlust und/oder das Versterben der Patienten nach 90 Tagen galten als positives Ereignis des jeweiligen Endpunktes.

Eine EAD war definiert als ein Bilirubinwert größer als 10mg/dl (171 mmol/l) am 7. postoperativen Tag oder eine INR größer als 1,6 am 7. postoperativen Tag oder eine ALAT oder ASAT in den ersten 7 postoperativen Tagen über 2000 U/l (33,4 μ kat/l) (Olthoff et al. 2010).

3.2 Aufarbeitung der Proben

3.2.1 Proben und Materialien

Proben	12-24 Galleproben pro Patient, in 5 bis 10 minütigen Intervallen gesammelt – ab Zeitpunkt 0 Minuten (zeitgleich zur ICG-Injektion), bei -80°C gelagert
Lösung	Ampuwa, Wasser für Injektionszwecke (Fresenius Kabi Dtl., Bad Homburg V.d.h.)
Farbstoff	Indocyaningrün (ICG-Pulsion®, Pulsion Medical Systems, München)

3.2.2 Herstellung der versuchsfertigen Galleproben

Zunächst wurden die tiefgekühlten Galleproben bei Raumtemperatur aufgetaut und mittels eines Vortex-Mixers gründlich durchmischt. Anschließend wurde in der Regel eine 1:8 Verdünnung der Galleproben hergestellt. Hierfür wurden 5 µl der Galleprobe in einen separaten Eppendorf-Tube pipettiert, mit 35 µl Ampuwa versetzt und per Vortex-Mixer homogenisiert. In einzelnen Fällen konnte es nötig sein, ein verändertes Lösungsverhältnis anzulegen. Bei zu hoch konzentrierten Gallesamples wurde eine höhere Verdünnung gewählt (1:12), im Falle einer sehr wässrigen Ausgangsprobe ein geringeres Mischungsverhältnis angelegt (1:4).

3.2.3 Anfertigung der Verdünnungsreihe

Aufgrund der teilweise erheblichen interindividuellen Unterschiede der gewonnenen Patientengalle mit einhergehenden verschiedenartigen Extinktionsmustern in den späteren Vermessungen, wurde für jeden Probanden eine eigene Verdünnungsreihe mit patienteneigener Galle angefertigt.

Zunächst wurde dafür eine Galle-Wasser-Lösung im selben Mischungsverhältnis, in dem die dazugehörigen Patientengalleprobe angefertigt worden war, hergestellt. Als Material diente hierfür die vor der ICG-Injektion aufgefangene Galle. Anschließend wurde ein Eppendorftube mit 38 µl der angelegten Gallelösung befüllt und mit 2 µl ICG-Lösung (Massenkonzentration 10 mg/ ml) versetzt. In den nächsten Schritten wurden nun jeweils 20 µl der Ausgangslösung mit 20 µl der gerade verdünnten ICG-Galle-Lösung vermischt, wodurch schlussendlich eine 8-fach-Verdünnungsreihe vorlag. Die hierdurch erhaltenen Galleproben mit bekannten ICG-Konzentration (absteigende Massenkonzentrationen der Verdünnungsreihe: 500 ng/ µl, 250 ng/ µl, 125 ng/ µl, 62,5 ng/ µl, 31,25 ng/ µl, 15,625 ng/ µl, 7,8125 ng/ µl und 3,90625 ng/ µl) dienten später der Anfertigung einer Kalibriergerade.

3.3 Vermessung der Proben

3.3.1 Gerät

NanoDrop® ND-1000 Spektrophotometer

Software: NanoDrop 3.1.2

3.3.2 Vermessung der Proben

Mittels spektrophotometrischer Ausmessung (NanoDrop®) der Verdünnungsreiheproben konnte für jeden Patienten eine individuelle Eichgerade erzeugt werden. Hierfür wurde das NanoDrop®-Gerät zuerst anhand einer Wasserprobe (Ampuwa) genullt und anschließend die Extinktionen der Lösungen als 1µl-Volumina bei 730nm und 800nm vermessen. Jede Probe wurde zur Mittelwertbestimmung 3-mal vermessen. Analog dazu wurden die gesammelten Galleproben nach ICG-Injektion ausgemessen.

3.4 Auswertung der Proben und klinischen Daten

3.4.1 Berechnung der ICG-Konzentration in der Patientengalle

Anhand der hergestellten Verdünnungsreihen konnte für jeden Patienten eine Kalibriergerade (Abbildung 6) erstellt werden. Diese wurde ausgehend von einer linearen Regressionsgerade mit der Formel $y = m \cdot x + b$ über die Funktionen "STEIGUNG" und "ACHSENABSCHNITT" von Microsoft® Excel 2002 berechnet mit :

$$m = \frac{n \cdot \sum x \cdot y - (\sum x) \cdot (\sum y)}{n \cdot \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad \text{und} \quad b = y - m \cdot x$$

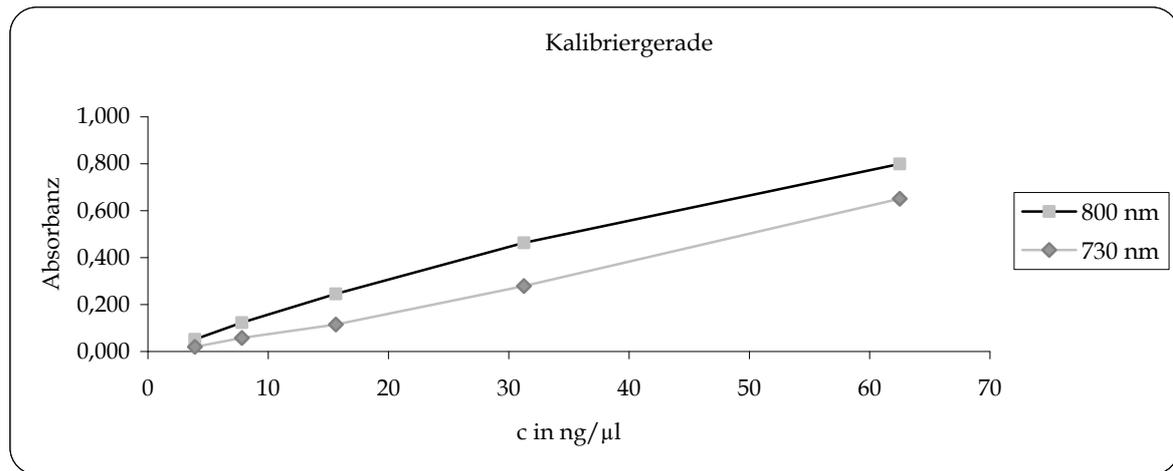


Abbildung 6 : Typische Kalibriergerade für ICG in humaner Galle

Exemplarische Darstellung zweier Kalibriergeraden von ICG in Patientengalle für die Wellenlängen 730nm und 800nm. Die Eichgeraden wurden aus den in den Verdünnungsreihen gewonnenen Konzentrations-Absorbanz-Wertepaaren erstellt.

Auf Grundlage dieser Eichgerade konnten die ausgemessenen Extinktionen der Galleproben mit $x = \frac{y-n}{m}$ in Massekonzentrationen umgerechnet und anschließend als Funktion über die Zeit t dargestellt werden (Abbildung 7). Als markante Werte wurden die biliäre ICG-Spitzenkonzentration und der dazugehörige Zeitpunkt des Auftretens erfasst.

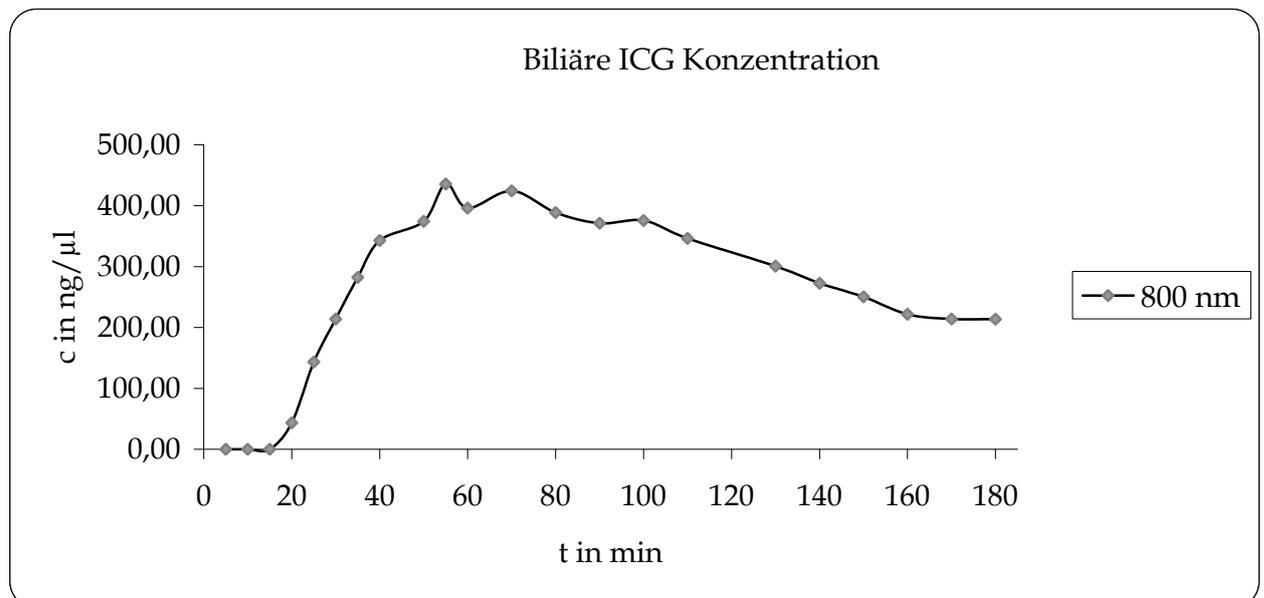


Abbildung 7 : Konzentration-Zeit Kurve von ICG in humaner Galle

Exemplarischer Verlauf der ICG-Konzentration in humaner Galle über den Zeitraum von 180min bei einem Patienten ohne Schädigungsmuster der exkretorischen Funktion der Leber.

3.4.2 Statistische Auswertung der Daten

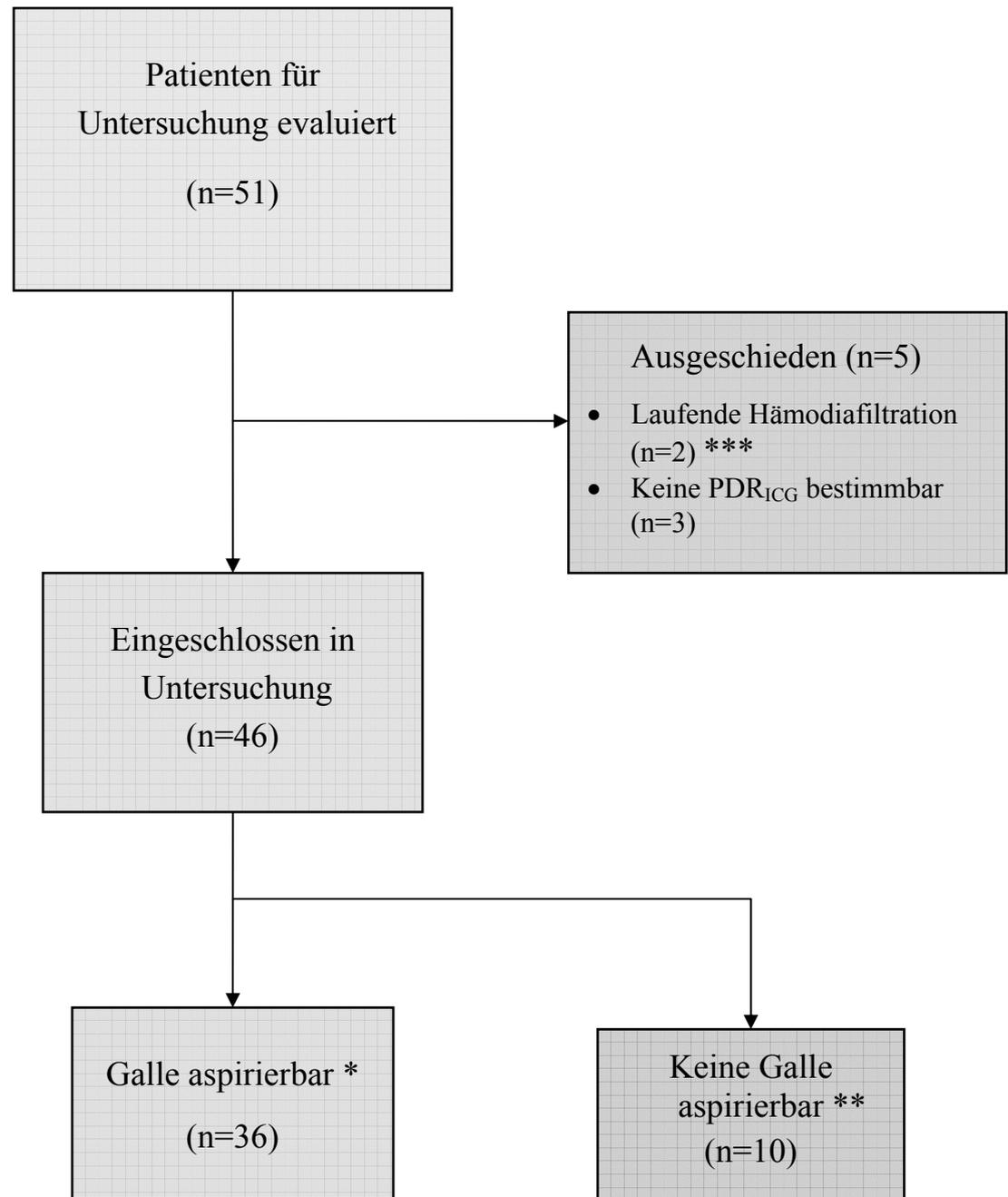
Die statistischen Berechnungen der Daten und Diagramme wurden unter Verwendung des kommerziellen Softwarepaketes SPSS Statistics® (Version 17.01, IBM Deutschland GmbH, IBM Business Analytics, München) und SigmaPlot® (Version 10.0, Systat Software GmbH, Erkrath) erstellt.

Es erfolgte zuerst eine Prüfung auf Normalverteilung mittels Kolmogorov-Smirnov-Test. Waren die Kriterien für parametrische Testung erfüllt, wurde zum Vergleich zweier Gruppen der ungepaarte t-Test verwandt. Bei Verletzung der Kriterien für eine parametrische Testung wurde der verteilungsfreie Mann-Whitney-U-Test verwandt.

Alle Tests wurden mit zweiseitiger Fragestellung durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde für alle durchgeführten statistischen Tests mit $p < 0,05$ festgelegt. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte als Boxplotdiagramm.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv



* = Patienten zur Untersuchung der Korrelation der PDR_{ICG} mit der biliären ICG-Ausscheidung geeignet

** = Patienten zur Gesamtauswertung hinzugezogen, biliäre ICG-Ausscheidung mit 0 ng/μl angenommen

*** = Interaktion und Beeinflussung der ICG-Ausscheidung nicht auszuschließen

4.2 Demographische Daten Gesamtkollektiv

46 Patienten wurden in die Untersuchung eingeschlossen. In Tabelle 1 sind die demographischen Daten und in Tabelle 2 die häufigsten Indikationen zur Lebertransplantation der Patienten dargestellt.

36 Patienten konnten zur Auswertung der Pathophysiologie der biliären Exkretion von ICG nach Lebertransplantation herangezogen werden. Das Alter dieser Gruppe betrug im Mittel $55 \pm 8,5$ Jahre (Median 57 Jahre).

Tabelle 1 : Demografische Daten des Kollektivs

Parameter	Anzahl [n]	Mittelwert \pm SD [Median ; Interquartilsabstand]
Patientenkollektiv	46	-
Geschlecht [m/w]	34 / 12	-
Alter [Jahre]	-	$55 \pm 8,4$ [57 ; 50-61]
Gewicht [kg]	-	$81 \pm 14,2$ [83 ; 73-90]
Größe [cm]	-	$172 \pm 8,4$ [172 ; 167-176]

Tabelle 2 : Die häufigsten Indikationen zur Lebertransplantation

Diagnose	Anzahl [n]
Nutritiv-toxische-Leberzirrhose (NTLC)	18
Hepatozelluläres Karzinom (HCC) bei NTLC	10
HCC in Leberzirrhose (LC)	5
Hepatitis B-LC	2

4.3 90-Tage-Überleben

Von den insgesamt 46 eingeschlossenen Patienten verstarben im 90-Tage-Nachbeobachtungszeitraum 5 Patienten und 41 überlebten. Die PDR_{ICG} unterschied sich in beiden Gruppen nicht. Dagegen bestand ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bei der biliären ICG-Spitzenkonzentration, dem Quotienten aus biliären Bilirubin/Serumbilirubin, der Verweildauer auf ITS sowie dem SOFA-Score am 1. und 3. postoperativen Tag.

Von den 36 Patienten mit Gallefluss verstarben 3 Patienten, 33 überlebten. Die biliäre ICG-Spitzenkonzentration unterschied sich signifikant in beiden Gruppen.

In Tabelle 3 sowie in Abbildung 8 bis Abbildung 16 sind die Parameter mitsamt Signifikanzen dargestellt.

Tabelle 3 : Daten für 90-Tage-Überleben des Patientenkollektivs vom ersten p.op. Tag

Parameter	Überlebende	Verstorbene	p
Anzahl [n]	41	5	-
Alter [Jahre]	55 ± 9,1 [57 ; 49-61]	57 ± 5,7 [57 ; 52-62]	n.s.
ZVD [mmHg]	7 ± 3,8 [7 ; 4-9]	8 ± 4,1 [10 ; 6-11]	n.s.
art. Mitteldruck [mmHg]	83 ± 11,5 [83 ; 74-92]	87 ± 15,3 [92 ; 71-101]	n.s.
max. Noradrenalin-Dosis [µg/kg/min]	0,24 ± 0,331 [0,08 ; 0-0,39]	0,73 ± 1,073 [0,73 ; 0,06-1,54]	n.s.
ITS Dauer [Tage]	12 ± 21,9 [6 ; 5-8]	31 ± 27,2 [36 ; 14-61]	0,003
ASAT [µkat/l]	25,9 ± 23,52 [18,6 ; 9,3-29,3]	51,2 ± 45,98 [40,2 ; 8,6-99,4]	n.s.
ALAT [µkat/l]	17,4 ± 17,55 [11,1 ; 6,5-19,6]	32,3 ± 30,14 [25,0 ; 5,8-62,4]	n.s.
γ-GT [µkat/l]	2,43 ± 2,049 [1,74 ; 1,09-3,18]	2,64 ± 2,45 [1,7 ; 0,8-4,96]	n.s.
Quick [%]	52,5 ± 15,79 [52 ; 42-60]	48,6 ± 12,22 [47 ; 39-60]	n.s.

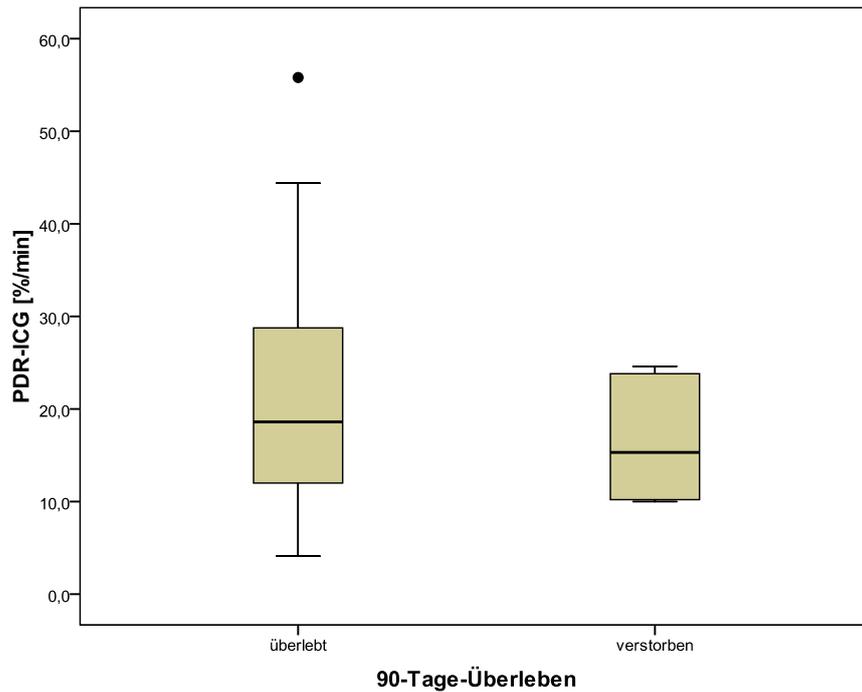


Abbildung 8: Vergleich der PDR_{ICG} in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Bei dem Vergleich der PDR_{ICG}-Werte 12h postoperativ bei überlebenden und verstorbenen Patienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Werte ($21,0 \pm 12,24$ [18 ; 12-29] %/min vs. $16,8 \pm 7,17$ [17 ; 10-24] %/min ; $p=0,583$).

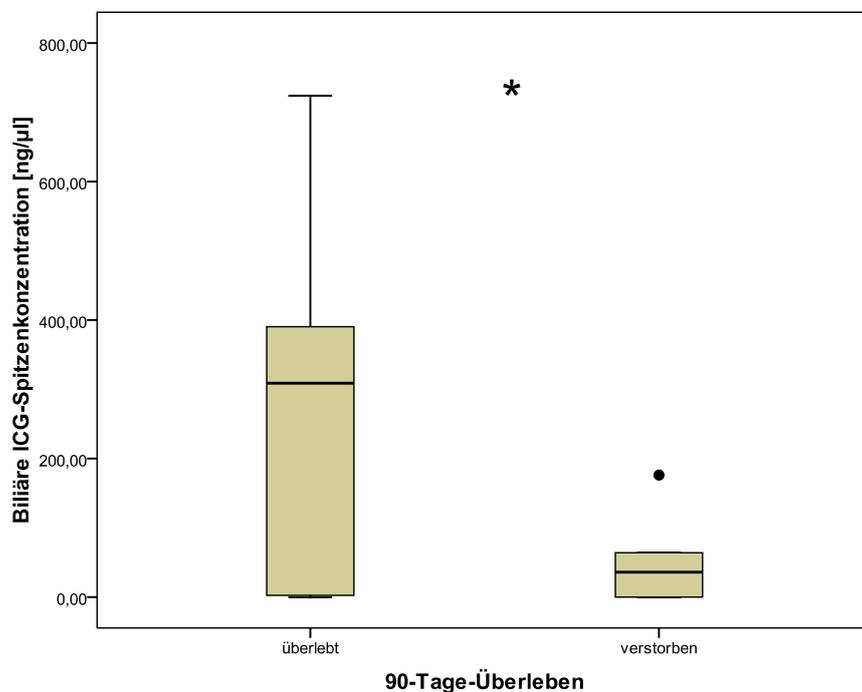


Abbildung 9 : Vergleich der biliären ICG-Spitzenkonzentration in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Die 12h postoperativ gemessenen Spitzenkonzentrationen von ICG in der Galle waren signifikant höher bei überlebenden als bei verstorbenen Patienten ($268,1 \pm 212,17$ [300 ; 10-397] ng/μl vs. $55,2 \pm 72,82$ [36 ; 0-120] ng/μl ; $p=0,038$). * = $p<0,05$

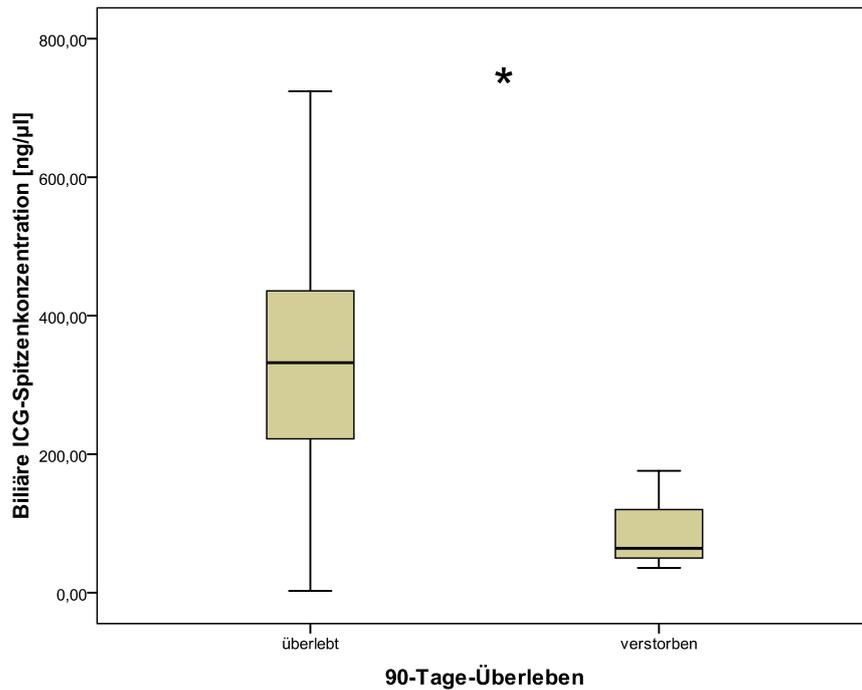


Abbildung 10 : Vergleich der biliären ICG-Spitzenkonzentration bei Patienten mit Gallefluss in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Die 12h postoperativ gemessenen Spitzenkonzentrationen von ICG in der Galle waren signifikant höher bei überlebenden als bei verstorbenen Patienten ($333,0 \pm 184,11$ [332 ; 207-449] ng/µl vs. $92,1 \pm 74,25$ [64 ; 36-120] ng/µl ; $p=0,029$). * = $p<0,05$

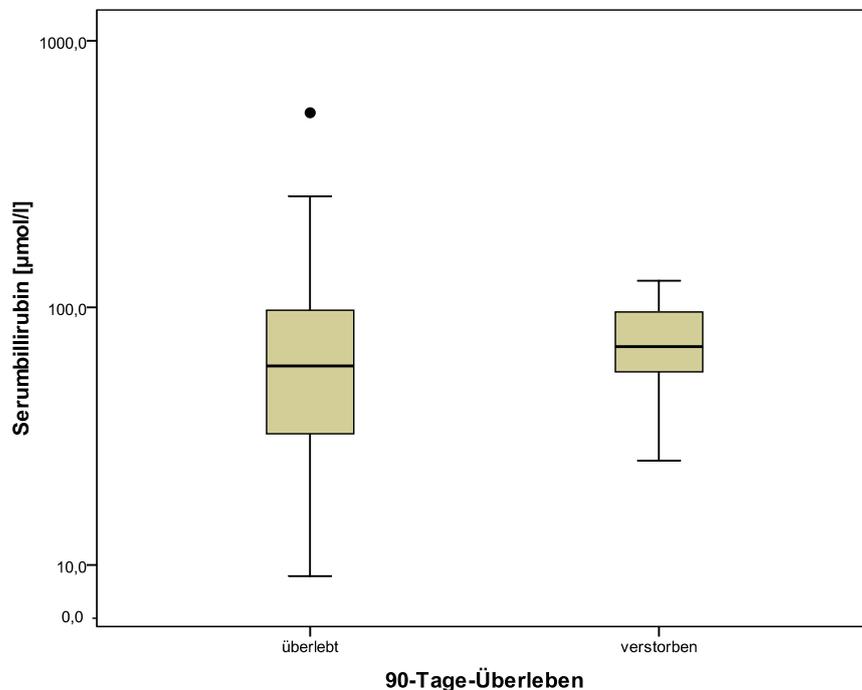


Abbildung 11 : Vergleich der Serumbilirubin-Werte in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Die am 1. p.op. Tag gemessenen Serumbilirubin-Werte unterschieden sich nicht bei überlebenden und verstorbenen Patienten ($75,27 \pm 38,0$ [60 ; 33-99] µmol/l vs. $89,9 \pm 99,58$ [71 ; 42-111] µmol/l ; $p=0,706$).

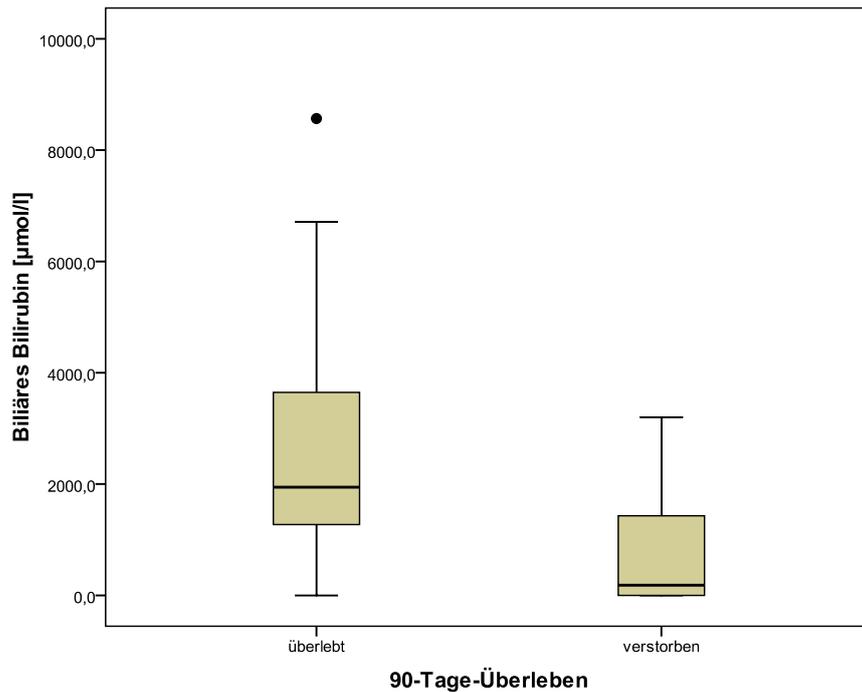


Abbildung 12 : Vergleich der biliären Bilirubin-Werte in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Die Bilirubinkonzentration in der gesammelten Galle der ersten 24h postoperativ war bei überlebenden tendenziell höher als bei verstorbenen Patienten ($2580,9 \pm 2030,93$ [1942 ; 1238-3660] µmol/l vs. $963,4 \pm 1387,46$ [183 ; 0-2317] µmol/l ; $p=0,058$).

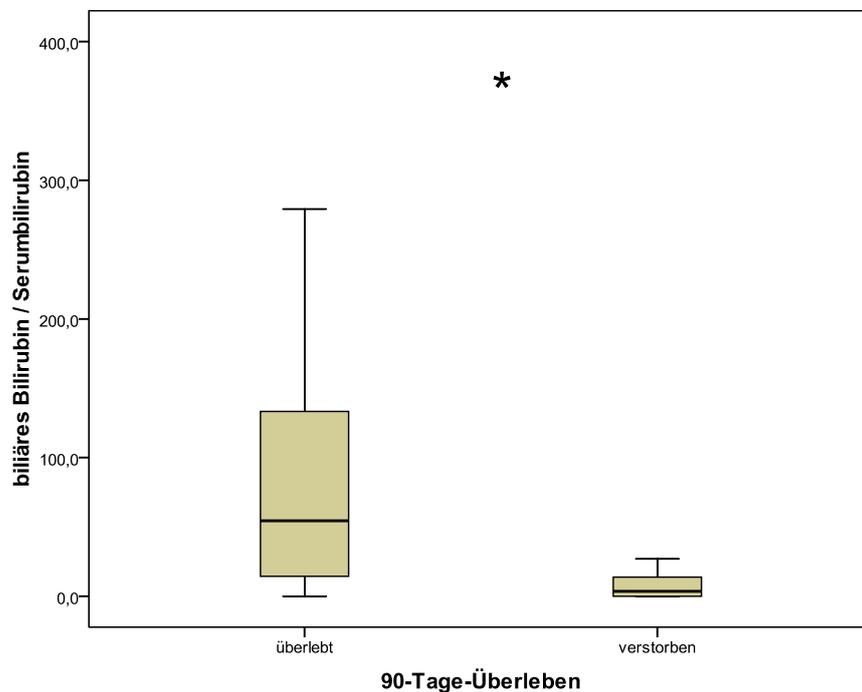


Abbildung 13 : Vergleich des Verhältnisses von biliären Bilirubin zu Serumbilirubin in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Der ermittelte Quotient aus biliären Bilirubin und Serumbilirubin unterschieden sich signifikant bei überlebenden und verstorbenen Patienten ($85,6 \pm 92,41$ [54,4 ; 14,3-143,9] vs. $8,9 \pm 11,68$ [3,6 ; 0-20,3] ; $p=0,013$). * = $p < 0,05$

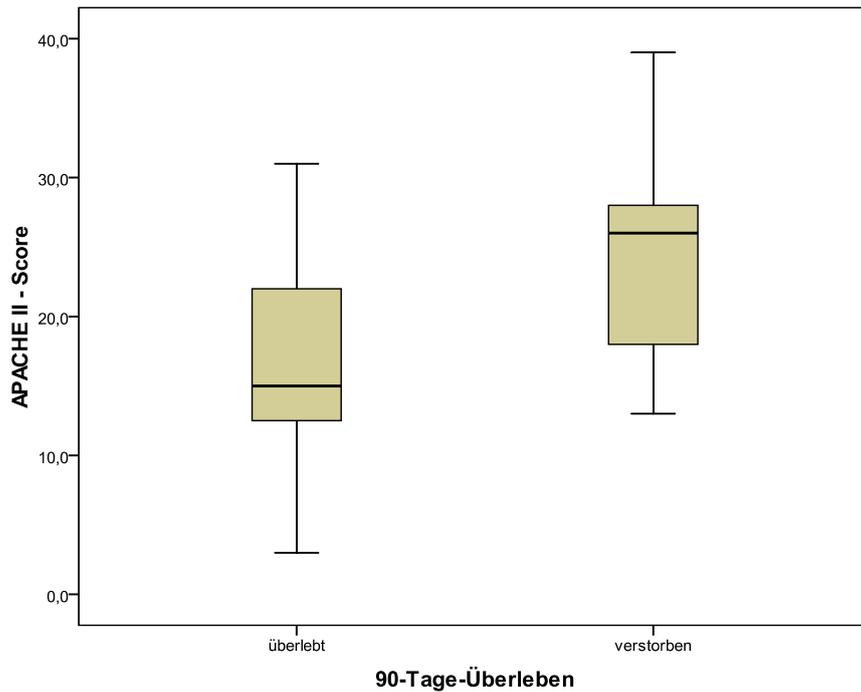


Abbildung 14 : Vergleich der APACHE II-Scores vom ersten p.op. Tag in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied des APACHE II-Scores bei überlebenden und verstorbenen Patienten ($17 \pm 7,2$ [15 ; 12-22] vs. $25 \pm 10,3$ [26 ; 16-34] ; $p=0,084$).

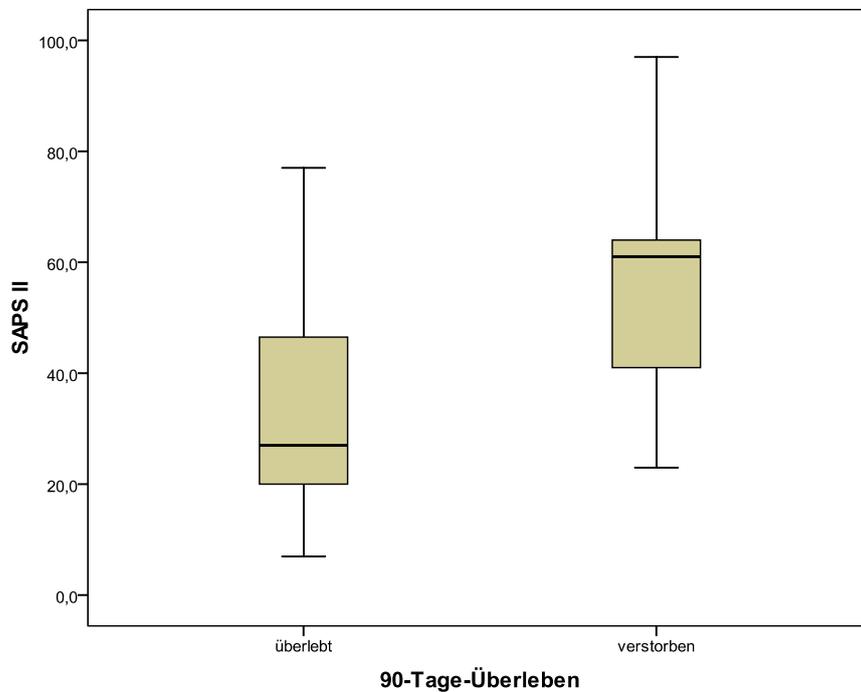


Abbildung 15 : Vergleich der SAPS II-Werte vom ersten p.op. Tag in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der SAPS II-Werte bei überlebenden und verstorbenen Patienten ($34 \pm 19,5$ [27 ; 20-47] vs. $57 \pm 28,7$ [61 ; 32-81] ; $p=0,071$).

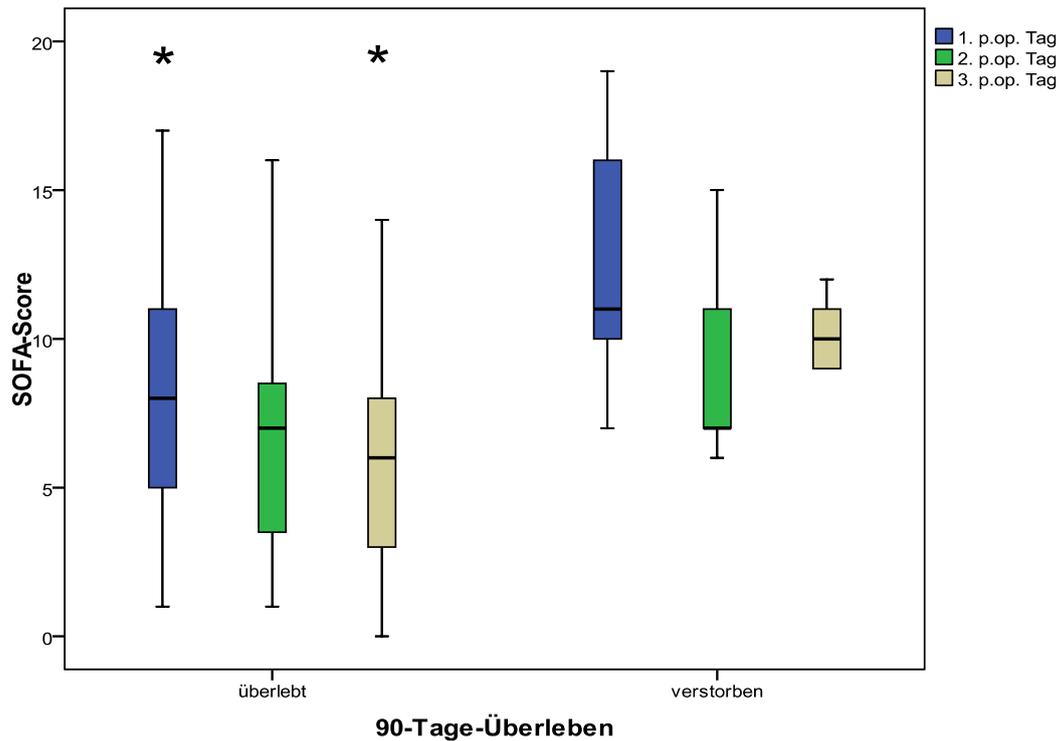


Abbildung 16 : Vergleich der SOFA-Scores der ersten drei p.op. Tage in Abhängigkeit vom Überleben nach 90 Tagen

Verstorbene Patienten hatten signifikant höhere SOFA-Scores als überlebende (1. p.op. Tag $13 \pm 5,6$ [11 ; 9-18] vs. $8 \pm 4,1$ [8 ; 5-11]; $p=0,046$; 2. p.op. Tag $9 \pm 4,4$ [7 ; 7-13] vs. $6 \pm 4,7$ [7 ; 3-9]; $p=0,181$; 3. p.op. Tag $10 \pm 1,3$ [10 ; 9-12] vs. $6 \pm 4,1$ [6 ; 3-8] $p=0,008$).
* = $p < 0,05$

4.3.2 Receiver Operating Characteristics (ROC-Kurven) für das 90-Tage-Überleben

Die ROC-Kurven wurden für die gemessenen Parameter 12 Stunden nach Reperfusion ermittelt. Dargestellt sind auf der Ordinate die Differenz aus 1-Spezifität und auf der Abszisse die Sensitivität.

Für die PDR_{ICG} und die intensivmedizinischen Scores ergaben sich folgende in Abbildung 17 bis Abbildung 22 dargestellte ROC-Kurven. Dabei zeigten sich hohe AUC-Werte für die biliäre ICG-Spitzenkonzentration, den Quotienten von biliärem Bilirubin/Serumbilirubin und die erhobenen Score-Werte. Die Ergebnisse sind signifikant für die biliäre ICG-Spitzenkonzentration, den Quotienten von biliärem Bilirubin/Serumbilirubin und den SOFA-Score am 3. p.op. Tag. Dagegen zeigte sich bei der PCR_{ICG} mit einer AUC von 0,58 keine gute Vorhersagekraft für das 90-Tage-Überleben.

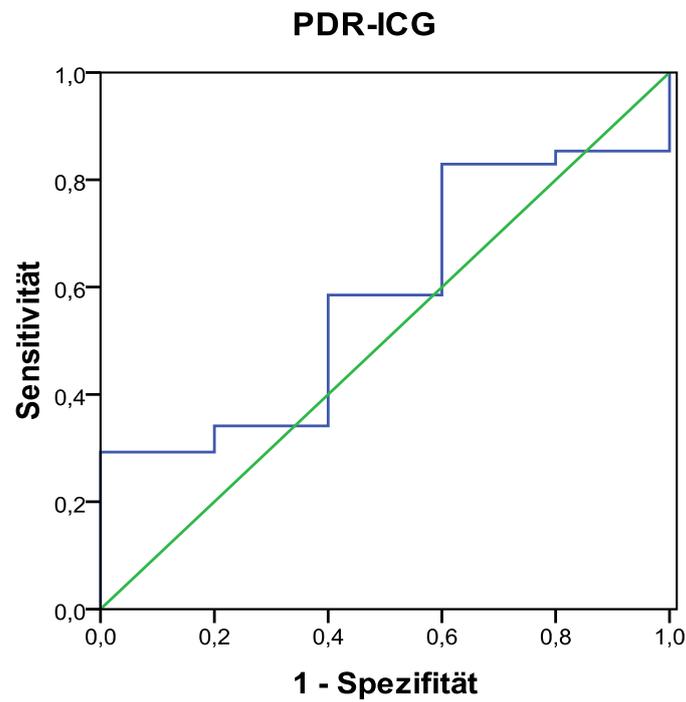


Abbildung 17 : ROC-Kurve für die PDR_{ICG}

Die AUC beträgt 0,580 (95%-Konfidenzintervall 0,347-0,814) bei einem Signifikanzniveau von $p=0,56$.

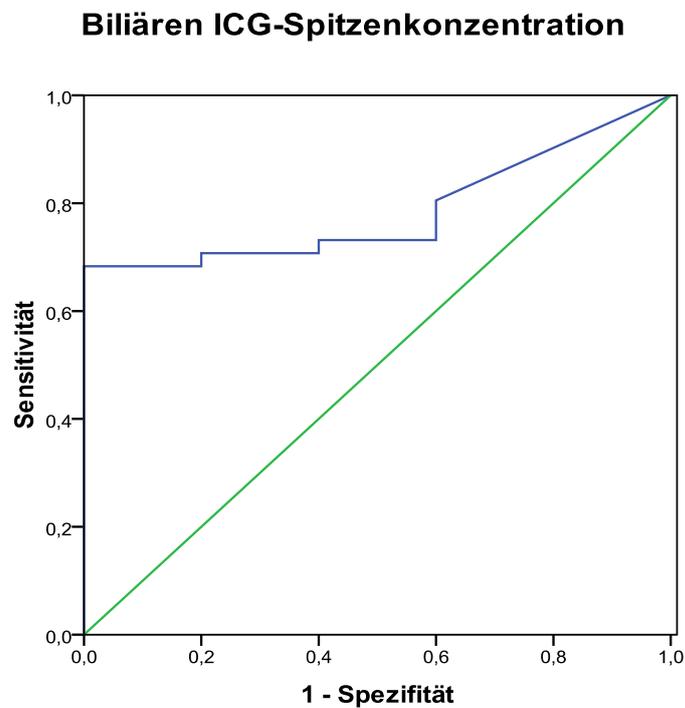


Abbildung 18 : : ROC-Kurve für die biliäre ICG-Spitzenkonzentration

Die AUC beträgt 0,785 (95%-Konfidenzintervall 0,645-0,925) bei einem Signifikanzniveau von $p=0,039$.

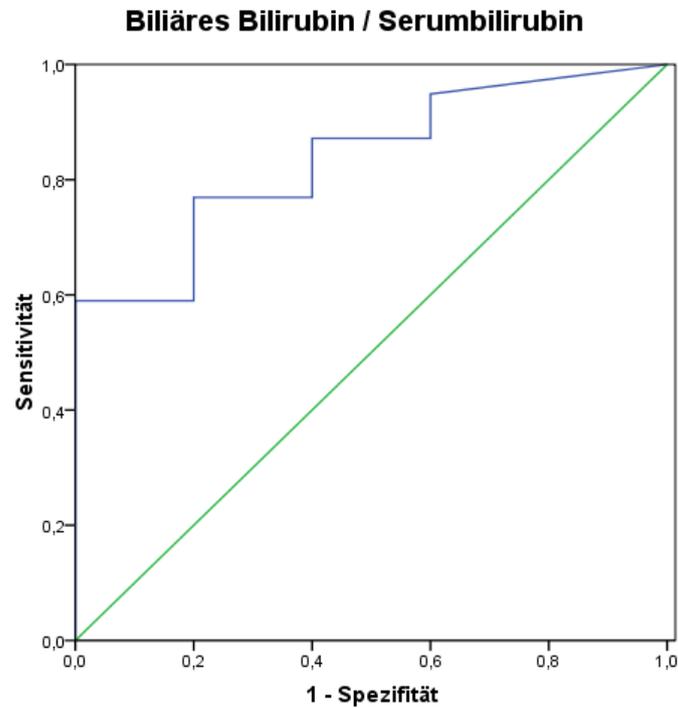


Abbildung 19 : ROC-Kurve für den Quotienten biliäres Bilirubin/Serumbilirubin
Die AUC beträgt 0,836 (95%-Konfidenzintervall 0,684-0,988) bei einem Signifikanzniveau von $p=0,015$.

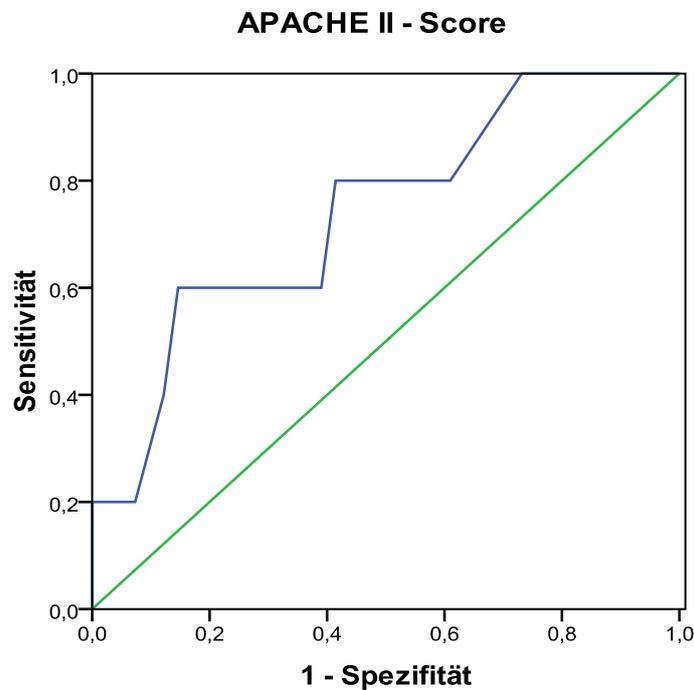


Abbildung 20 : ROC-Kurve für den APACHE II-Score am 1. p.op. Tag
Die AUC beträgt 0,739 (95%-Konfidenzintervall 0,509-0,969) bei einem Signifikanzniveau von $p=0,084$.

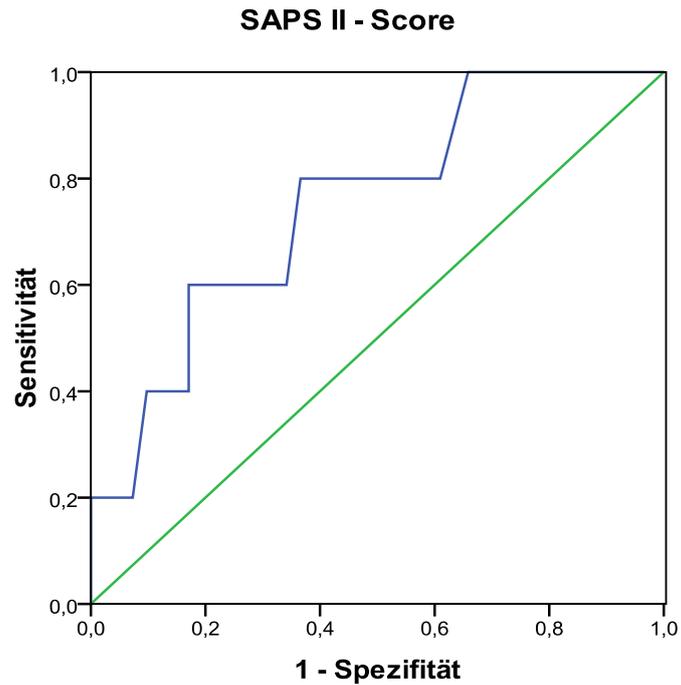


Abbildung 21 : : ROC-Kurve für den SAPS II am 1. p.op. Tag

Die AUC beträgt 0,751 (95%-Konfidenzintervall 0,535-0,967) bei einem Signifikanzniveau von $p=0,069$.

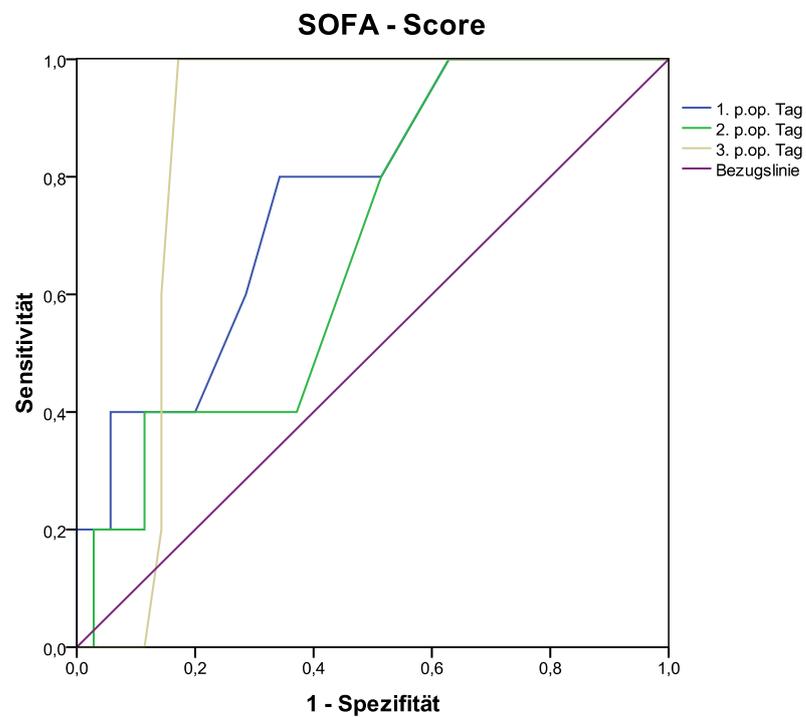


Abbildung 22 : ROC-Kurve für den SOFA-Score an den 3 ersten p.op. Tagen

Die AUC beträgt 0,773 (95%-Konfidenzintervall 0,560-0,950) einem Signifikanzniveau von $p=0,060$ für Tag eins, 0,68 (95%-Konfidenzintervall 0,463-0,897) mit $p=0,198$ für Tag zwei und 0,854 (95%-Konfidenzintervall 0,739-0,936) mit $p=0,011$ für Tag 3 nach der OP.

4.4 90-Tage-Transplantatüberleben

Im 90-Tage-Nachbeobachtungszeitraum kam es bei 8 (17%) der 46 Patienten zu einem Transplantatverlust bzw. zum Versterben. Die PDR_{ICG} unterschied sich in beiden Gruppen nicht signifikant. Es zeigte sich aber eine Tendenz zu niedrigeren PDR_{ICG} -Werten bei schlechtem Outcome. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bestand bei der biliären ICG-Spitzenkonzentration, dem Quotienten aus biliärem Bilirubin/Serumbilirubin, beim maximalen Noradrenalin-Bedarf, dem Quick-Wert und den intensivmedizinischen Scores SAPS II und SOFA.

Bei den 36 Patienten mit Gallefluss kam es bei 5 Patienten (14%) zu einem Transplantatverlust bzw. zum Versterben. Die biliäre ICG-Spitzenkonzentration unterschied sich in beiden Gruppen signifikant.

In Tabelle 4 sowie in Abbildung 23 bis Abbildung 31 sind die Parameter mitsamt Signifikanzen dargestellt.

Tabelle 4 : Daten für das 90-Tage-Transplantatüberleben des Patientenkollektivs

	Transplantat-Überleben	Transplantat-Verlust bzw. Versterben des Patienten	p
Anzahl [n]	38	8	-
Alter [Jahre]	55 ± 8,3 [58 ; 50-61]	55 ± 9,5 [55 ; 51-62]	n.s
ZVD [mmHg]	7 ± 3,7 [7 ; 4-9]	7 ± 3,2 [8 ; 4-10]	n.s
art. Mitteldruck [mmHg]	83 ± 11,7 [82 ; 74-92]	89 ± 14,1 [91 ; 74-102]	n.s
max. Noradrenalin-Dosis [µg/kg/min]	0,21 ± 0,318 [0,04 ; 0-0,34]	0,70 ± 0,846 [0,48 ; 0,13-0,87]	0,021
ITS Dauer [Tage]	12 ± 23,6 [6 ; 5-8]	25 ± 26,4 [18 ; 6-39]	n.s
ASAT [µkat/l]	23,6 ± 20,81 [17,7 ; 9,6-27,3]	52,7 ± 41,08 [57,9 ; 8,8-90,8]	n.s.
ALAT [µkat/l]	15,1 ± 14,04 [10,9 ; 6,0-17,9]	37,8 ± 29,84 [37,0 ; 7,6-66,3]	n.s.
γ-GT [µkat/l]	2,36 ± 1,980 [1,73 ; 1,08-3,03]	2,88 ± 2,542 [1,72 ; 1,15-5,76]	n.s.
Quick [%]	54,3 ± 15,02 [53 ; 45-60]	41,9 ± 13,45 [41 ; 32-53]	0,039

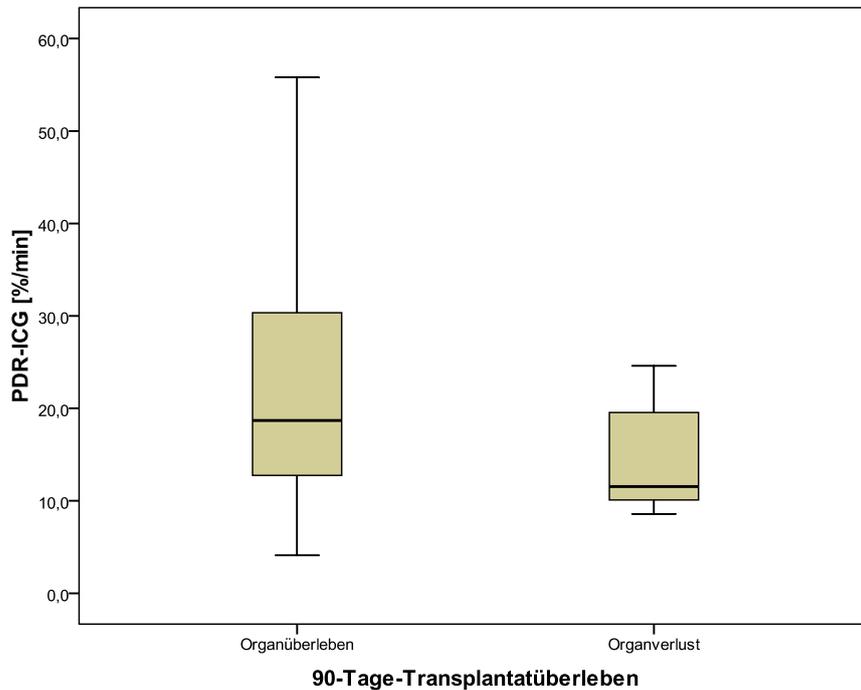


Abbildung 23 : Vergleich der PDR_{ICG} in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Bei dem Vergleich der PDR_{ICG} bei Patienten mit Organüberleben und Organverlust nach 90-Tagen zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Werte ($22,0 \pm 12,37$ [19 ; 13-30] %/min vs. $14,5 \pm 6,31$ [12 ; 10-22] %/min ; $p=0,096$).

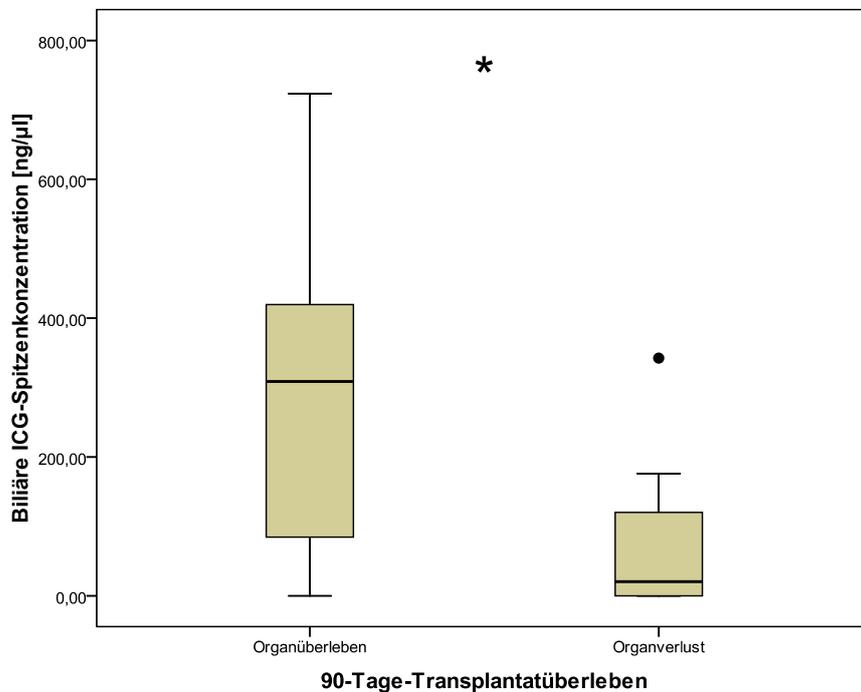


Abbildung 24 : Vergleich der biliären ICG-Spitzenkonzentration in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Die gemessenen Spitzenkonzentrationen von ICG in der Galle waren signifikant höher bei Patienten mit Organüberleben als bei Patienten mit Organverlust ($280,1 \pm 211,12$ [309 ; 46-411] ng/µl vs. $78,0 \pm 123,64$ [20 ; 0-148] ng/µl; $p=0,019$). * = $p<0,05$

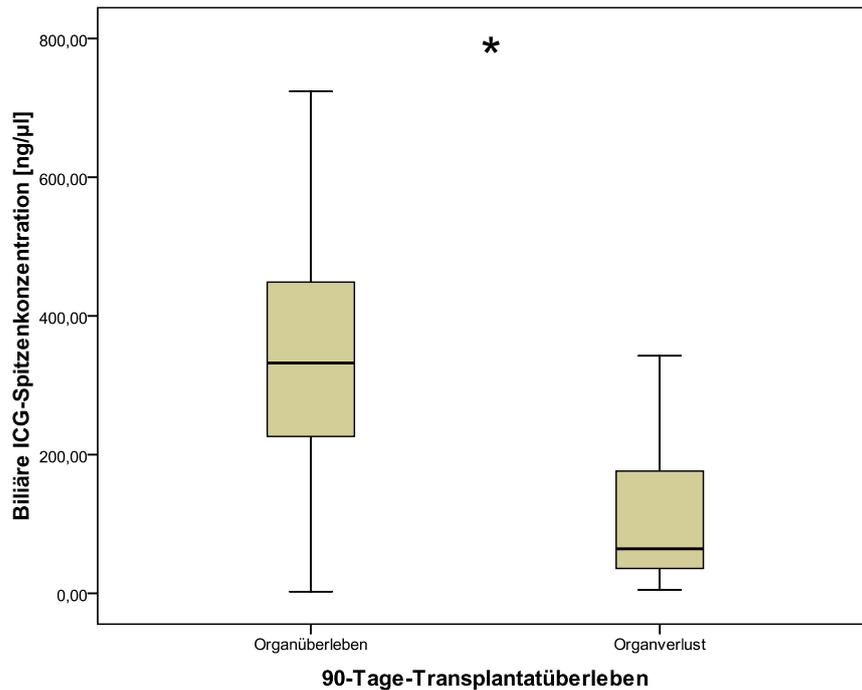


Abbildung 25 : Vergleich der biliären ICG-Spitzenkonzentration bei Patienten mit Gallefluss in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Die gemessenen Spitzenkonzentrationen von ICG in der Galle waren signifikant höher bei Patienten mit Organüberleben als bei Patienten mit Organverlust ($343,3 \pm 180,25$ [332 ; 222-462] ng/μl vs. $124,7 \pm 137,83$ [64 ; 20-259] ng/μl; $p=0,019$). * = $p<0,05$

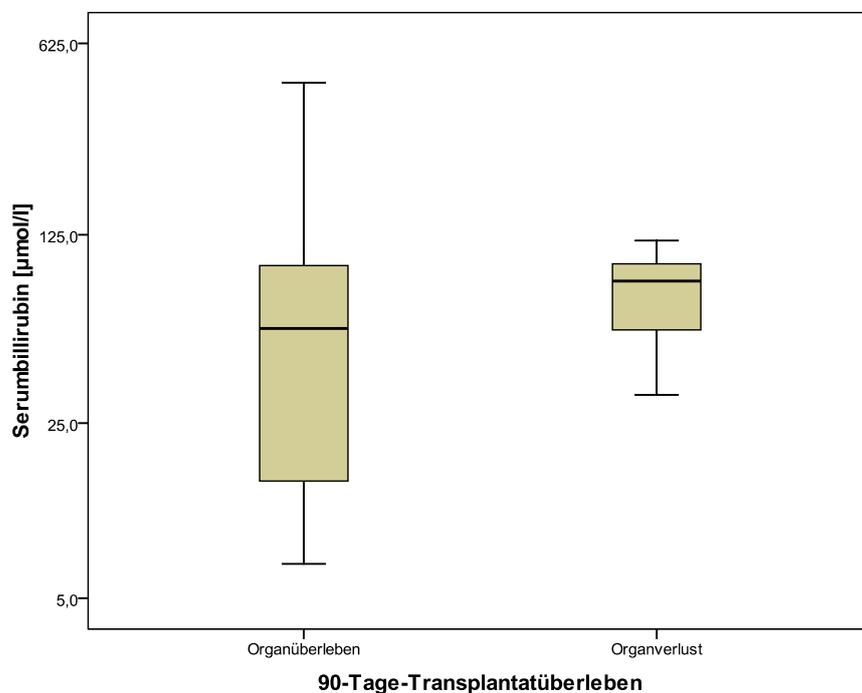


Abbildung 26 : Vergleich der Serumbilirubin-Werte in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Bei dem Vergleich der Serumbilirubinwerte bei Patienten mit Organüberleben und Organverlust nach 90-Tagen zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($73,4 \pm 82,39$ [57 ; 15-99] μmol/l vs. $78,5 \pm 28,72$ [84,5 ; 54-101] μmol/l ; $p=0,353$).

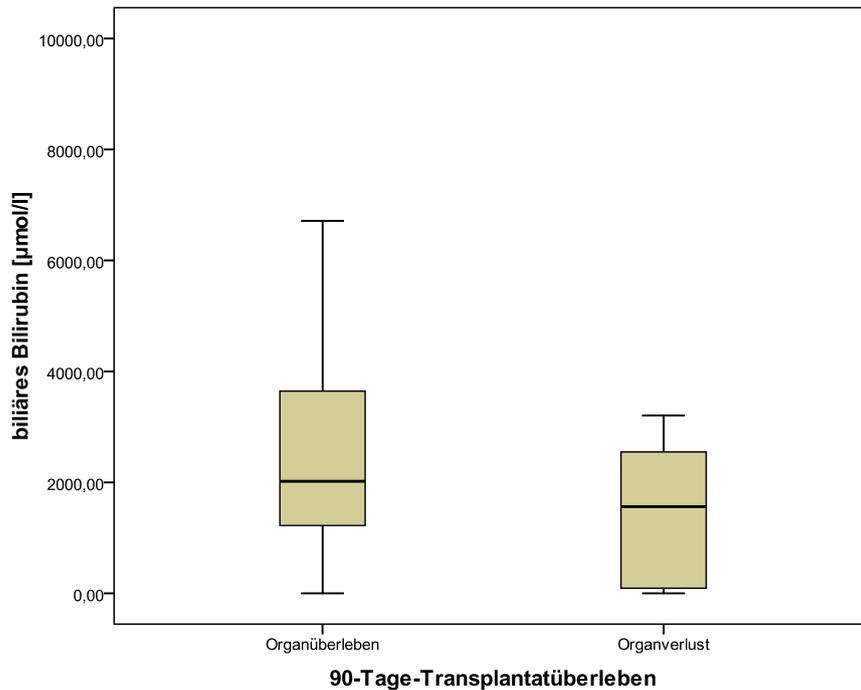


Abbildung 27 : Vergleich der biliären Bilirubin-Werte in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Die Bilirubinkonzentration in der gesammelten Galle der ersten 24h postoperativ unterschieden sich nicht bei Patienten mit Organüberleben und Organverlust ($2510,5 \pm 1988,64$ [2019 ; 1213-3653] $\mu\text{mol/l}$ vs. $1886,8 \pm 2238,48$ [1561 ; 46-2876] $\mu\text{mol/l}$; $p=0,329$).

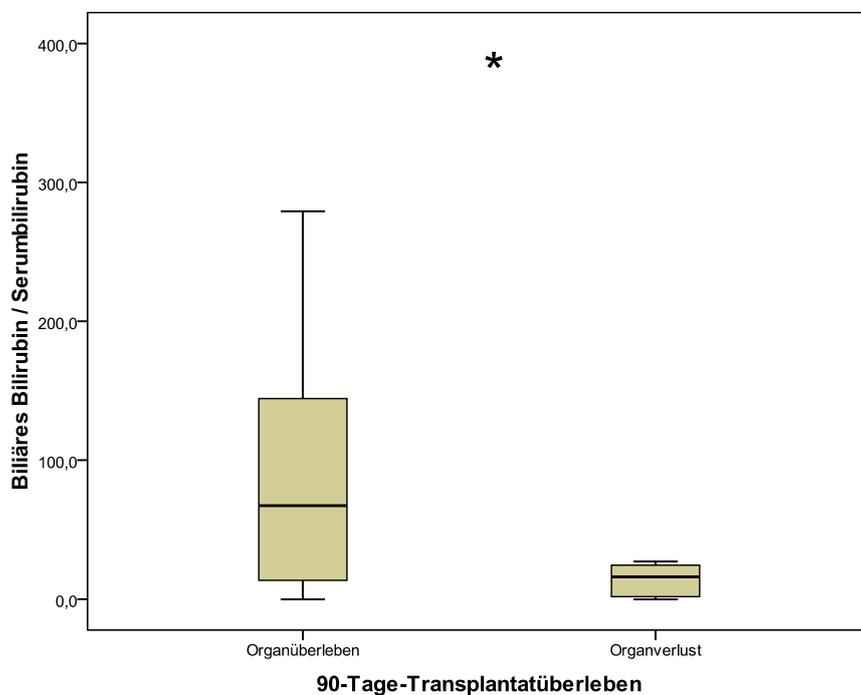


Abbildung 28 : Vergleich des Verhältnisses von biliären Bilirubin zu Serumbilirubin in Abhängigkeit vom Organüberleben nach 90 Tagen

Die ermittelten Quotienten aus biliären Bilirubin und Serumbilirubin unterschieden sich signifikant bei Patienten mit Organüberleben und Organverlust ($88,6 \pm 94,91$ [67,2 ; 132-144,6] vs. $24,3 \pm 36,03$ [16,0 ; 0,9-25,7] ; $p=0,048$). * = $p<0,05$

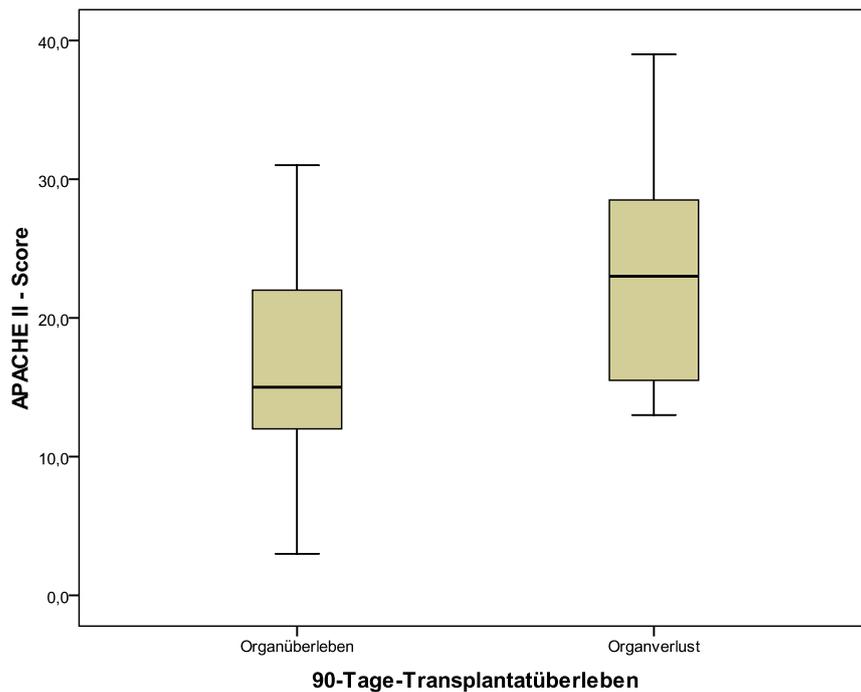


Abbildung 29 : Vergleich der APACHE II-Scores vom ersten p.op. Tag in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Es zeigte sich eine Tendenz zu höheren APACHE II-Scores bei Patienten mit Organverlust. ($17 \pm 7,4$ [15 ; 12-22] vs. $23 \pm 9,1$ [23 ; 14-29]; $p=0,053$).

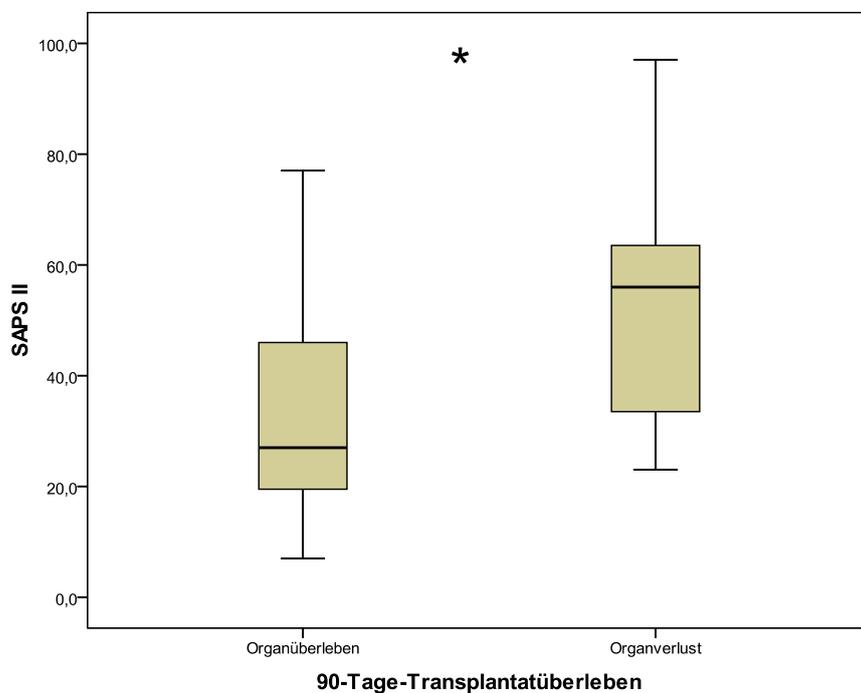


Abbildung 30 : Vergleich der SAPS II-Werte vom ersten p.op. Tag in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Patienten mit Organverlust hatten signifikant höhere SAPS II-Werte als Patienten mit Organüberleben ($53 \pm 24,3$ [56 ; 30-64] vs. $33 \pm 19,5$ [27 ; 19-46]; $p=0,025$). * = $p<0,05$

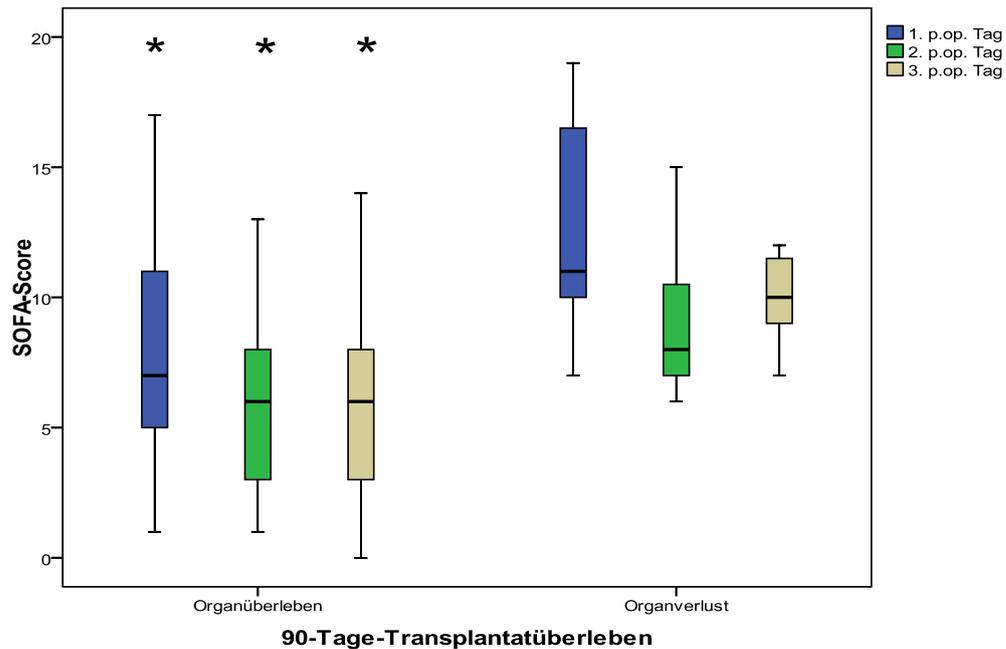


Abbildung 31 : Vergleich der SOFA-Scores der ersten drei p.op. Tage in Abhängigkeit vom Transplantatüberleben nach 90 Tagen

Patienten mit Organverlust hatten signifikant höhere SOFA-Scores als Patienten mit Organüberleben (1. p.op. Tag $13 \pm 4,6$ [11; 10-17] vs. $7 \pm 4,4$ [7; 5-11]; $p = 0,005$; 2. p.op. Tag $10 \pm 4,5$ [9; 7-14] vs. $6 \pm 3,8$ [6; 3-8]; $p = 0,013$; 3. p.op. Tag $10 \pm 2,7$ [10; 9-12] vs. $6 \pm 4,1$ [6; 3-8]; $p = 0,03$). * = $p < 0,05$

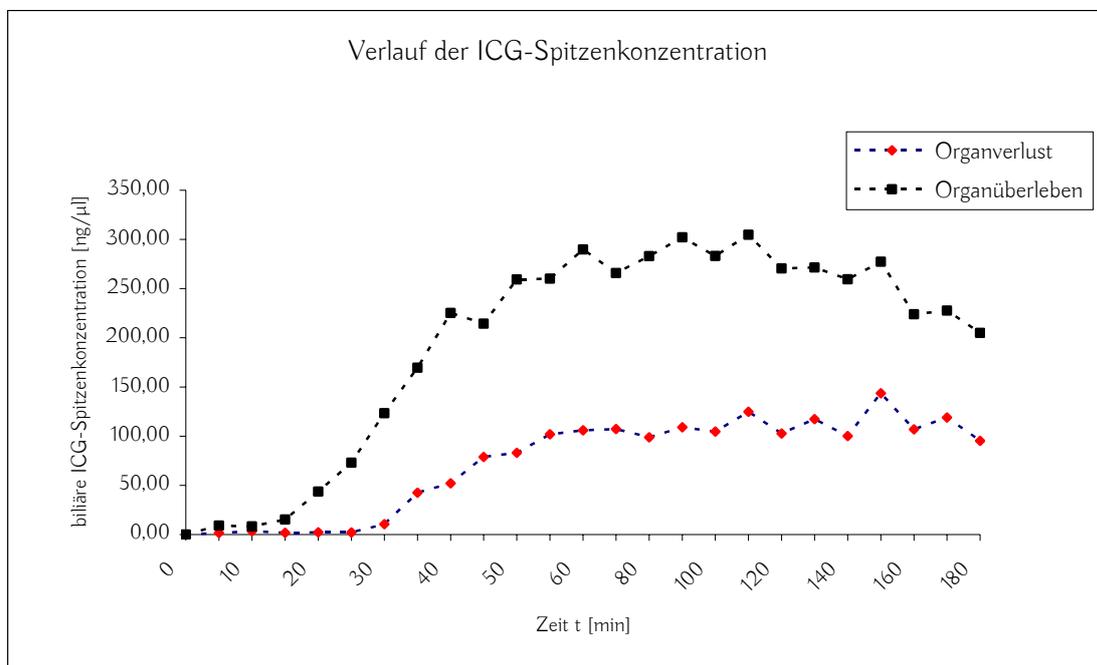


Abbildung 32 : Zeitlicher Verlauf der biliären ICG-Konzentration in Abhängigkeit vom 90-Tage-Transplantatüberleben

Es sind die Mittelwerte der biliären ICG-Konzentrationen über die Messdauer von 180 Minuten für Patienten mit Organüberleben und Organverlust dargestellt. Signifikante Unterschiede zu den einzelnen Zeitpunkten bestehen nicht, aber es stellt sich ein Trend zu niedrigeren ICG-Konzentrationen bei Patienten mit schlechtem Outcome dar.

4.5 Early Allograft Dysfunction

Von den 46 Patienten erfüllten 17 (37%) die Kriterien für eine EAD (siehe 3.1.9). Sowohl die PDR_{ICG} als auch die biliäre ICG-Spitzenkonzentration, die ITS-Liegedauer, der Quick-Wert und die intensivmedizinischen Scores APACHE II, SAPS II und SOFA unterschieden sich signifikant in den Vergleichsgruppen. Bei Patienten mit schlechtem Outcome im 90-Tage-Transplantatüberleben lag signifikant häufiger eine EAD vor als bei Patienten mit gutem Outcome ($p=0,042$).

Aus der Gruppe der 36 Patienten mit Gallefluss lag bei 11 Patienten (31%) eine EAD vor. Die biliäre ICG-Spitzenkonzentration unterschied sich in beiden Gruppen signifikant.

In Tabelle 5 sowie in Abbildung 33 bis Abbildung 38 sind die Parameter mitsamt Signifikanzen dargestellt.

Tabelle 5 : Daten für die Early Allograft Dysfunction des Patientenkollektivs

	Keine EAD	EAD	p
Anzahl [n]	29	17	-
Alter [Jahre]	57 ± 8,3 [58; 52-61]	53 ± 9,7 [55; 49-61]	n.s
ZVD [mmHg]	7 ± 4,7 [6 ; 4-9]	8 ± 3,2 [8 ; 6-10]	n.s
art. Mitteldruck [mmHg]	82 ± 11,5 [83 ; 74-89]	87 ± 13,1 [89 ; 77-100]	n.s
max. Noradrenalin-Dosis [µg/kg/min]	0,20 ± 0,329 [0,04 ; 0- 0,34]	0,44 ± 0,652 [0,17 ; 0-0,69]	n.s.
ITS Dauer [Tage]	7 ± 7,4 [6 ; 5-7]	27 ± 35,6 [8 ; 6-35]	0,01
Quick [%]	56,9 ± 15,82 [54 ; 48-64]	43,9 ± 10,67 [46 ; 34-53]	0,005

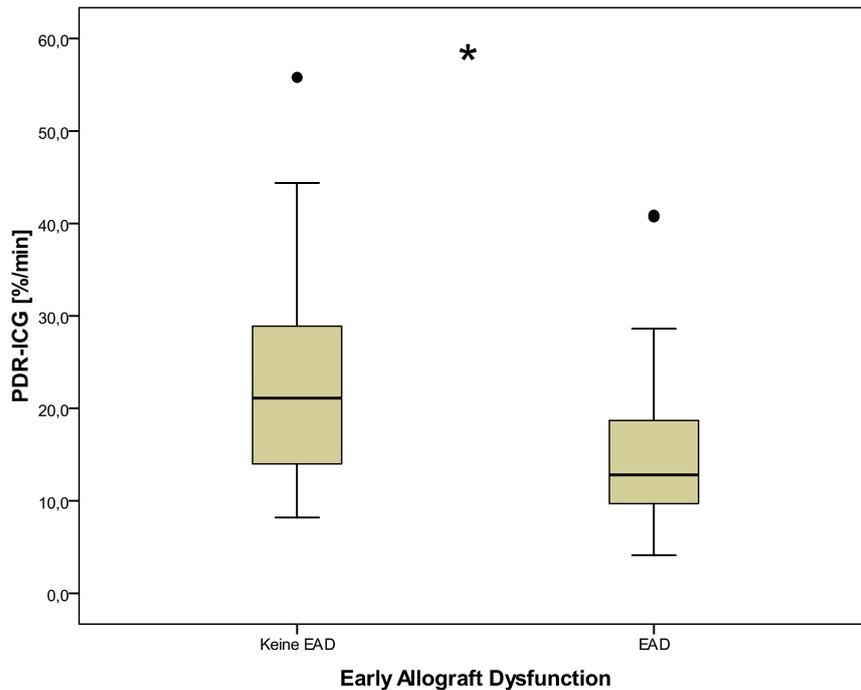


Abbildung 33 : Vergleich der PDR_{ICG} bei Patienten mit und ohne EAD

Bei dem Vergleich der PDR_{ICG} bei Patienten ohne und mit EAD zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ($22,8 \pm 11,81$ [21 ; 13-30] %/min vs. $16,7 \pm 10,94$ [13 ; 9-21] %/min ; $p=0,044$).

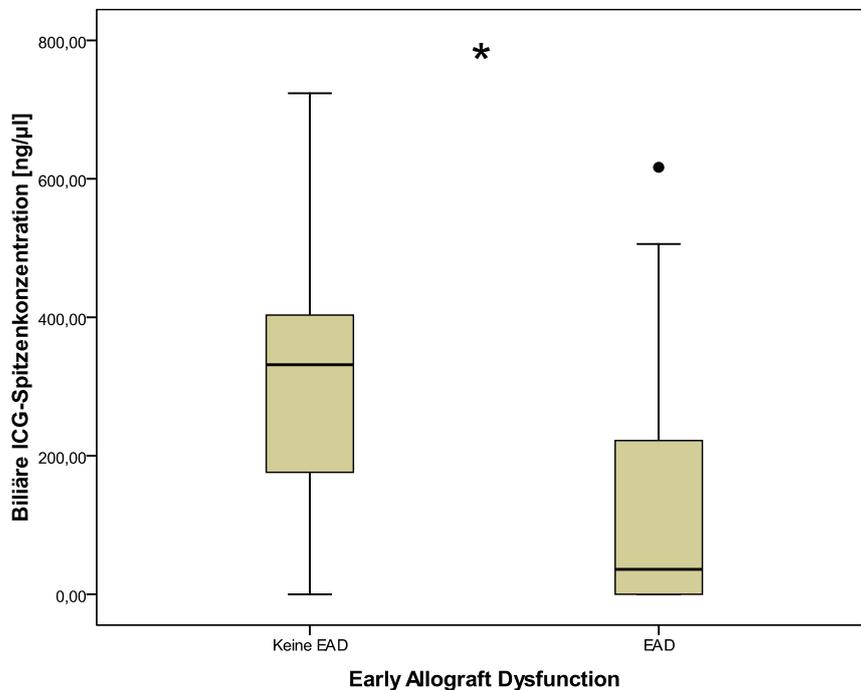


Abbildung 34 : Vergleich der biliären ICG-Spitzenkonzentration bei Patienten mit und ohne EAD

Die gemessenen Spitzenkonzentrationen von ICG in der Galle waren signifikant höher bei Patienten ohne EAD als bei Patienten mit EAD ($305,9 \pm 201,64$ [331 ; 145-420] ng/µl vs. $140,8 \pm 192,44$ [36 ; 0-226] ng/µl ; $p=0,010$). * = $p < 0,05$

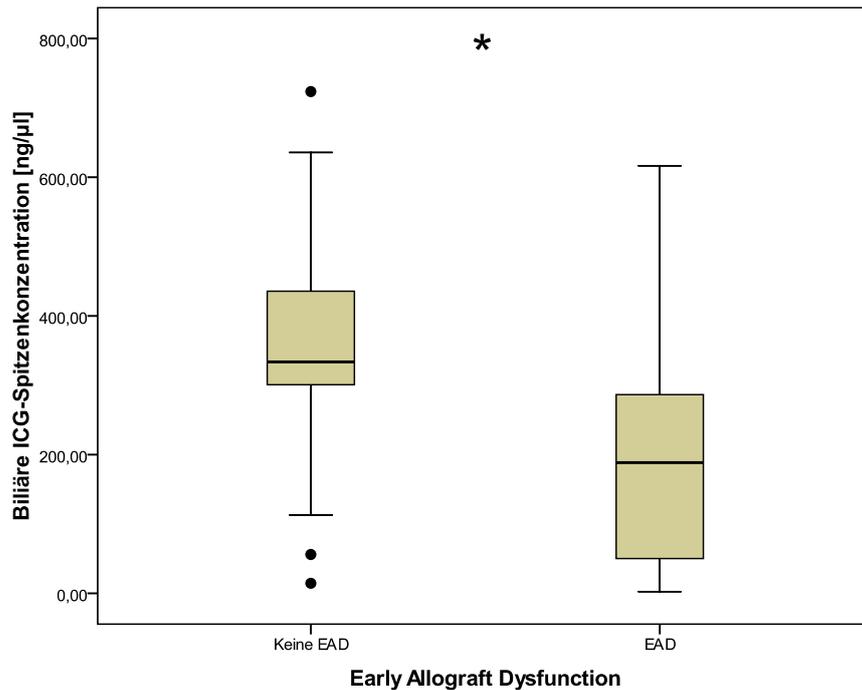


Abbildung 35 : Vergleich der biliären ICG-Spitzenkonzentration bei Patienten mit Gallefluss mit und ohne EAD

Die gemessenen Spitzenkonzentrationen von ICG in der Galle waren signifikant höher bei Patienten ohne EAD als bei Patienten mit EAD ($354,9 \pm 171,21$ [334 ; 276-449] ng/μl vs. $217,7 \pm 202,18$ [189 ; 36-343]ng/μl ; $p= 0,041$). * = $p<0,05$

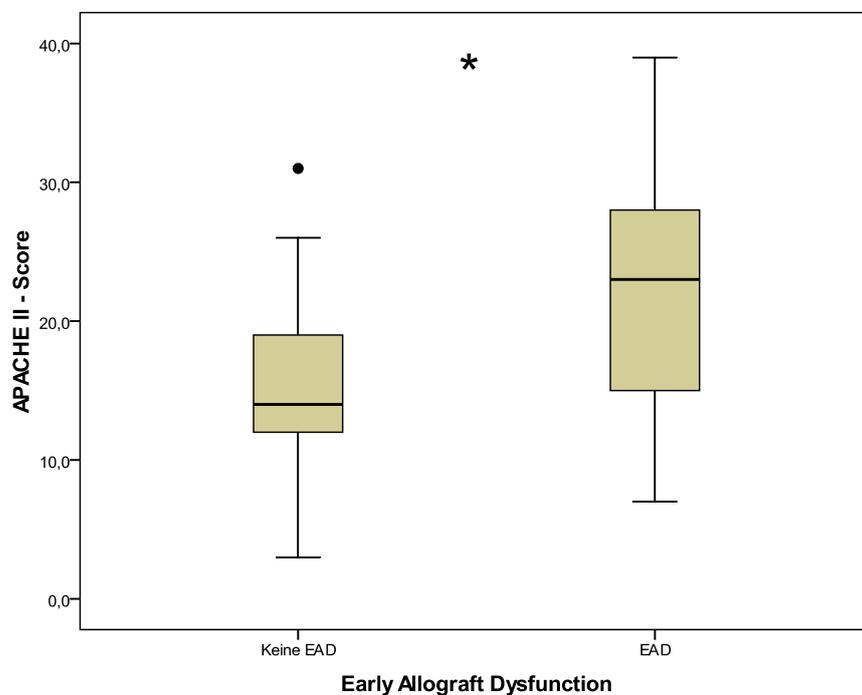


Abbildung 36 : Vergleich der APACHE II-Scores vom ersten p.op. Tag bei Patienten mit und ohne EAD

Patienten mit einer EAD hatten signifikant höhere APACHE II-Scores als Patienten ohne EAD ($22 \pm 8,2$ [23 ; 14-28] vs. $16 \pm 6,6$ [14 ; 12-20]; $p= 0,005$) * = $p<0,05$

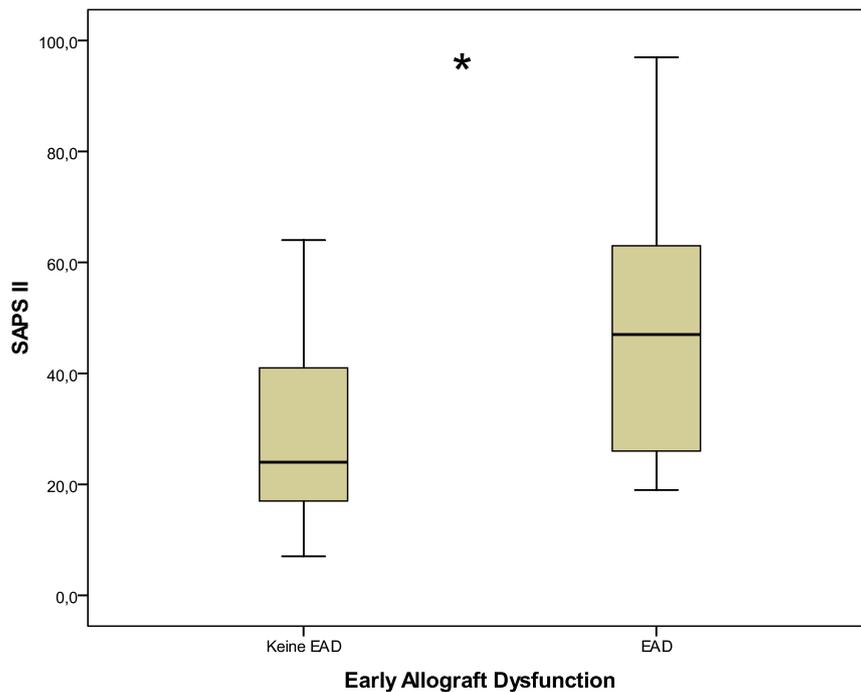


Abbildung 37 : Vergleich der SAPS II-Werte vom ersten p.op. Tag bei Patienten mit und ohne EAD

Patienten mit einer EAD hatten signifikant höhere SAPS II-Werte als Patienten ohne EAD ($49 \pm 23,5$ [47 ; 25-65] vs. $29 \pm 17,5$ [24 ; 16-41] $p=0,004$). * = $p < 0,05$

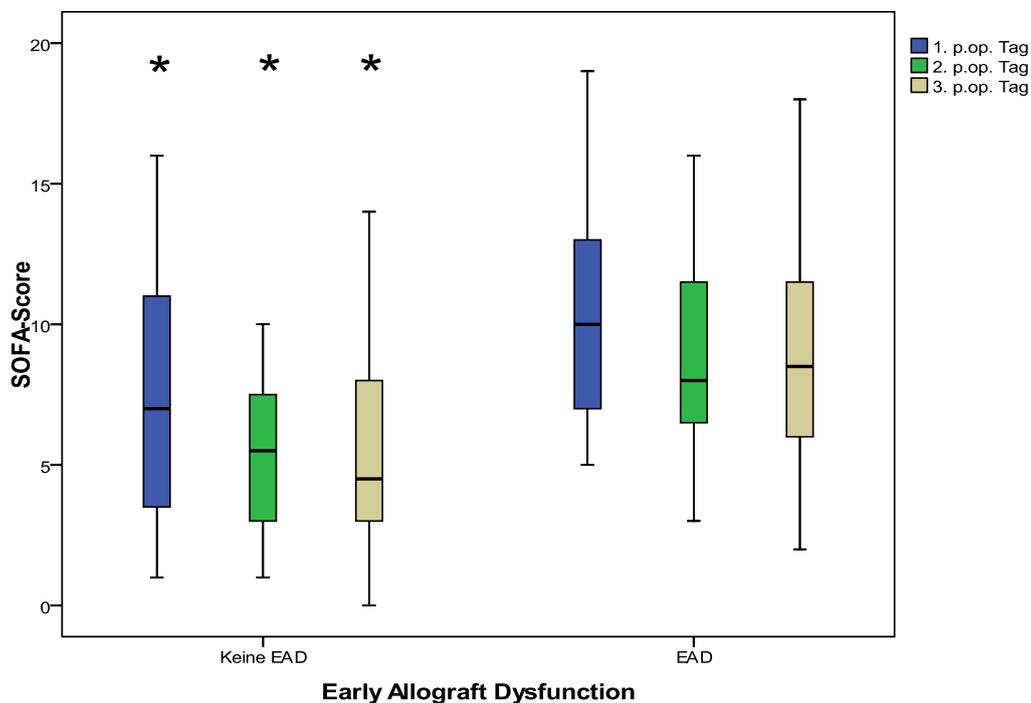


Abbildung 38 : Vergleich des SOFA-Scores der ersten drei p.op. Tage bei Patienten mit und ohne EAD

Patienten mit einer EAD hatten signifikant höhere SOFA-Scores als Patienten ohne EAD (1. p.op. Tag: $11 \pm 4,4$ [10 ; 7-13] vs. $7 \pm 4,6$ [6 ; 4-11] ; $p=0,001$; 2. p.op. Tag: $9 \pm 4,3$ [8 ; 7-12] vs. $6 \pm 3,9$ [6 ; 3-7] ; $p=0,001$; 3. p.op. Tag: $9 \pm 4,2$ [9 ; 6-12] vs. $5 \pm 3,6$ [5 ; 3-8] ; $p=0,005$). * = $p < 0,05$

5 Diskussion

Seit der ersten Lebertransplantation am Menschen 1963 (Starzl et al. 1963) hat sich dieses Verfahren zur Behandlung einer Vielzahl von Lebererkrankungen beständig weiterentwickelt und etabliert (Hakim und Danovitch 2001, Adam et al. 2012). Trotz erheblicher Fortschritte liegt die durchschnittliche 3-, 6- und 12-Monats-Mortalität bei 9%, 12% und 18% (Adam et al. 2012). Transplantatversagen, Abstoßungsreaktionen, chirurgische Komplikationen oder Infektionen bis hin zu septischen Verläufen können auftreten. Das frühzeitige Erkennen solcher Störungen ist die Grundvoraussetzung für eine adäquate Therapie und Verbesserung der Prognose. Die herkömmlichen Laborparameter sind hierfür in den meisten Fällen ungeeignet. Neuere diagnostische Verfahren, wie die Bestimmung der PDR_{ICG} , konnten mittlerweile einen hohen Stellenwert erlangen (Gonnert et al. 2012, Kortgen et al. 2010).

Die Messung der PDR_{ICG} steht als bettseitiges Verfahren zur Verfügung und wurde sowohl für chirurgische (Olmedilla et al. 2009, Tsubono et al. 1996) als auch septische (Inal et al. 2009, Kimura et al. 2001, Kortgen et al. 2009) Patientenkollektive mehrfach positiv evaluiert.

Es scheint jedoch in bestimmten Situationen Einschränkungen der prognostischen Aussagekraft der PDR_{ICG} zu geben. Okabe und Kollegen fanden bei der Untersuchung der so genannten „prime and second attack“ bei Leberschädigungen anhand von endotoxämischen Ratten heraus, dass sich die Plasmaclearance von ICG (ähnlich der PDR_{ICG}) der erkrankten Population im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe nicht unterschied. Dagegen stellten sie eine signifikante Reduktion der biliären ICG-Exkretion der endotoxämischen Ratten fest. Sie schlussfolgerten, dass die biliäre Sekretionsleistung der Hepatozyten am empfindlichsten auf endotoxämische Schädigungen des Organs reagieren könnte (Okabe et al. 2003).

Stehr et al. studierten das Verhältnis der PDR_{ICG} zu der biliären ICG-Exkretion unter Endotoxinämie an 15 Schweinen. Die Daten wurden vor und nach 12-stündiger Endotoxin-Infusion unter hyperdynamer Kreislaufsituation erhoben. Während bei der PDR_{ICG} keinerlei Änderungen zu verzeichnen waren, kam es zu einem signifikanten Abfall der biliären ICG-Ausscheidung. Auf Grundlage dieser Ergebnisse folgerten sie, dass normale PDR_{ICG} -Messwerte unter akuten, frühinflammatorischen Bedingungen mit Vorsicht zu interpretieren sind (Stehr et al. 2005).

Vergleichbare Untersuchungen am Menschen liegen bisher kaum vor.

In der vorliegenden Arbeit wurde die biliäre ICG-Exkretion bei Patienten nach Lebertransplantation ermittelt und in der Aussagekraft hinsichtlich Patientenüberleben und Transplantatdysfunktion mit der PDR_{ICG} sowie den intensivmedizinischen Scores verglichen.

5.1 Kritische Wertung der Methodik

Die Daten dieser vorliegenden prospektiven Untersuchung wurden in den Jahren 2007 bis 2009 erhoben. In dieser Zeit wurden nicht alle Patienten, die einer Lebertransplantation unterzogen wurde, in diese Arbeit mit aufgenommen. Beeinflusst durch logistische und zeitliche Rahmenbedingungen konnten letztendlich 46 Patienten für diese Untersuchung herangezogen werden. Die Auswahl der Patienten folgte keinem Raster und war zufällig.

5.1.1 Die Lebertransplantation als Modell zur Pathophysiologie der Leber bei frühinflammatorischen systemischen Veränderungen

Die Auswahl von lebertransplantierten Patienten für diese Studie beruht auf zwei grundlegenden Überlegungen: einerseits kann über die bei den Patienten platzierte T-Drainage nicht-invasiv Galleflüssigkeit entnommen und so die biliäre ICG-Konzentration ermittelt werden. Andererseits treten bei diesen Patienten mit systemischen Entzündungsreaktionen vergleichbare, pathophysiologische Muster auf. So fanden Abdala et al. bei der Untersuchung von 42 lebertransplantierten Patienten heraus, dass es zu einer signifikanten Translokation von Endotoxin in das Blut während der frühen Postreperfusionphase kommt (Abdala et al. 2007). Eine andere Arbeit fand erhöhte Endotoxinlevel bis zum 7. postoperativen Tag nach Lebertransplantation. Auch korrelierten besonders hohe Endotoxinspiegel mit postoperativen Komplikationen (Pillay et al. 1997). Des Weiteren ist bekannt, dass in der postoperativen Phase typische entzündliche Zytokinmuster auftreten, denen die Vorgänge im Zusammenhang mit dem Ischämie-Reperfusionsschadens zugrunde liegen. So sind unter anderen die Interleukine 1β , 6, 8 und 10 bis zu 24 Stunden nach Reperfusion des transplantierten Organs signifikant erhöht (Mueller et al. 1996, Kotsch et al. 2008, Nakamura et al. 1999).

Da in der vorliegenden Arbeit die eben genannten Veränderungen nicht überprüft wurden, ist es nicht auszuschließen, dass abweichende pathophysiologische Reaktionen auftraten. Die Interpretation der Daten stützte sich auf die dargelegte, aktuelle Datenlage.

Des Weiteren wurden alle Patienten nach dem gleichen Immunsuppressionsschema behandelt, wodurch etwaige Co-Reaktionen oder Beeinflussungen der Immunantwort aufgrund unterschiedlicher Medikamente zur postoperativen Immunsuppression ausgeschlossen werden können.

Unter diesem Vorbehalt bieten sich Patienten nach Lebertransplantation als Modell zur Untersuchung spezifischer Leberfunktionsstörungen unter pathophysiologischen, früh-inflammatorischen Bedingungen an und ermöglichen die Untersuchung der verschiedenen Teilschritte der Ausscheidung von ICG unter solchen Umständen.

5.1.2 PDR_{ICG}

Die Bestimmung der PDR_{ICG} mittels Fingerclip-System (LiMON Pulsion®, Pulsion Medical Systems, München) ist ein etabliertes, standardisiertes Verfahren. Aufgrund der alleinigen Elimination des Farbstoffes ICG über die Leber erlaubt die PDR_{ICG} eine spezifische Darstellung der Leberfunktion. Das Verfahren ist sowohl von der Leistung der apikalen Lebertransporter als auch der Perfusion des Organs abhängig und Störungen auf hepatozellulärer Ebene sowie eine beeinträchtigte Leberperfusion können sich in der PDR_{ICG} widerspiegeln.

5.1.2.1 Die Leberperfusion als Störgröße

In dieser Arbeit ist der Einfluss von makrovaskulären Störungen auf die Messwerte unwahrscheinlich. Der arterielle Mitteldruck sowie die Herzfrequenz unterschieden sich in den Outcome-Kategorien nicht voneinander und lagen im Normbereich (90-Tage-Überlebende vs. Verstorbene (MW \pm SD) ; art. Mitteldruck : $83 \pm 11,3$ mmHg vs. $87 \pm 15,1$ mmHg; Herzfrequenz : $86 \pm 16,6$ /min vs. $96 \pm 22,1$ /min). Auch die sonografisch erhobenen organspezifischen Perfusionsparameter – Pfortaderfluss, maximale Flussgeschwindigkeit in der Arteria hepatica propria (V_{max}.Art.) und der Resistance Index der Leberarterie (RI) – zeigten keine Unterschiede (90-Tage-Überlebende vs.

Verstorbene (MW \pm SD) Pfortaderfluss: $31 \pm 15,2$ cm/s vs. $23 \pm 8,7$ cm/s ; Vmax.Art.: $49 \pm 26,5$ cm/s vs. $51 \pm 14,8$ cm/s ; RI: $0,65 \pm 0,143$ vs. $0,66 \pm 0,052$).

5.1.2.2 Dosierung von ICG

In der vorliegenden Arbeit wurde eine standardisierte ICG-Dosis von 50mg für alle Patienten verwendet (durchschnittliche Dosis der Patienten: 0,6mg /kgKG).

Der Verzicht auf eine gewichtsadaptierte Dosierung bei allen Patienten ist damit zu begründen, dass aufgrund der Organtransplantation nicht mehr von einem Zusammenhang zwischen Patientengewicht und Leberfunktionsmasse ausgegangen werden kann (Zusammenhang Empfänger-BMI und Spender-BMI: $R^2=0,076$). Die einheitliche Dosierung von ICG ermöglicht bei allen Patienten ausreichend hohe sowie tolerable Dosen des Farbstoffes.

5.1.2.3 Zeitpunkt der Messung

Es wurde angestrebt, die Messungen der PDR_{ICG} mit anschließender Galleasservierung jeweils 12 Stunden nach der Reperfusion des Organs durchzuführen. Aufgrund innerklinischer Abläufe kann es zu geringen Abweichungen von diesem Zeitfenster gekommen sein (MW \pm SD $12,4h \pm 1,2h$). Eventuelle Beeinflussungen hierdurch sind nicht auszuschließen, jedoch höchst unwahrscheinlich.

5.1.2.4 Wertigkeit der PDR_{ICG}

In der Transplantationschirurgie der Leber hat die Messung der PDR_{ICG} als frühzeitiges Hilfsmittel zur Beurteilung von Transplantatfunktion und Prognose einen wichtigen Stellenwert erlangt. In der Arbeit von Olmedilla et al. mit 172 Patienten erwies sich die postoperativ gemessene PDR_{ICG} als bester Parameter zur Früherkennung einer schweren Graft-Dysfunktion. Sowohl den herkömmlichen Parametern wie Bilirubin, INR oder ASAT als auch den klassischen klinischen Einflussgrößen wie Spender- und Empfängeralter oder kalte Ischämiezeit war die PDR_{ICG} in der Vorhersage von guter und schlechter Transplantatfunktion signifikant überlegen (Olmedilla et al. 2009). Auch Tsubono et al. kamen bei der Untersuchung von 50 orthotopen Lebertransplantationen zu vergleichbaren Ergebnissen (Tsubono et al. 1996). Vos et al. fanden sogar bereits für die intraoperativ gemessene PDR_{ICG} während Lebertransplantation eine signifikante Vorhersagekraft bezüglich postoperativer Komplikationen (Vos et al. 2013). Dagegen fand eine spanische Arbeitsgruppe in einer retrospektiven Studie an 59 Lebertransplantierten keinen signifikanten Unterschied der PDR_{ICG} hinsichtlich Patientenoutcome und Transplantatüberleben (Escorsell et al. 2012).

Auch bei anderen Patientengruppen liefert die Bestimmung der PDR_{ICG} gute Ergebnisse. Gottlieb et al. zeigten bei 7 schwer verletzten Patienten, dass die PDR_{ICG} als früher Indikator für Leberdysfunktion geeignet ist. Eine verringerte PDR_{ICG} ging dem Anstieg der Serumbilirubinkonzentration deutlich voraus und war sensitiver in der Feststellung einer hepatischen Dysfunktion (Gottlieb et al. 1984). Pollack et al. fanden bei 42 Patienten nach Trauma oder Schock heraus, dass die PDR_{ICG} , im Gegensatz zu den Leberenzymen und dem Serumbilirubin, eine signifikante Unterscheidung zwischen Überlebenden und Verstorbenen zuließ (Pollack et al. 1979). In neueren Studien wurde auch die Relevanz der PDR_{ICG} bei kritisch kranken septischen Patienten untersucht. Eine türkische Arbeitsgruppe untersuchte prospektiv 40 septische Patienten und stellte fest, dass die PDR_{ICG} bei verstorbenen Patienten signifikant niedriger war als bei Überlebenden (Mittelwerte $12,1 \pm 7,6\%/min$ vs $21,2 \pm 10,1\%/min$). Auch erwies sich die PDR_{ICG} in Sensitivität und Spezifität als vergleichbar mit dem komplexen APACHE II-Score (AUC 0,765 vs 0,692) (Inal et al. 2009). Kortgen et al. kamen bei der prospektiven Untersuchung von 48 Patienten mit schwerer Sepsis zu ähnlichen Ergebnissen. Sowohl die PDR_{ICG} als auch der APACHE II- und SOFA-Score unterschieden sich im Gegensatz zum Serumbilirubin bei Überlebenden und Verstorbenen signifikant (Kortgen et al. 2009). Auch in einer größeren retrospektiven Arbeit mit 336 kritisch kranken Patienten zeigte sich die PDR_{ICG} als guter prognostischer Marker für das Outcome der Patienten (Mittelwerte Überlebende vs. Verstorbene : $8,0 \pm 6,7\%/min$ vs $16,6 \pm 7,6\%/min$) und war gleichwertig mit dem APACHE II-Score sowie dem SAPS II (Sakka et al. 2002).

5.1.3 Biliäre ICG-Spitzenkonzentration

Die hepatische Exkretionsleistung von ICG wurde in dieser Arbeit anhand der höchsten gemessenen ICG-Konzentration in der Galle während der 180-minütigen Galleasservierungsphase bestimmt und eingeschätzt. Die absolute Menge des ausgeschiedenen ICG konnte nicht ermittelt werden, da nicht davon ausgegangen werden kann, dass die komplette Galleflüssigkeit über die T-Drainage nach extern abgeleitet wird. Es können so keine Aussagen über die Ausscheidungsfraktion von ICG während der Messzeit getroffen werden. Bei der Bestimmung der Konzentration von ICG in der Galle könnte es durch eine gestörte Galleflüssigkeitsproduktion zu falsch hohen bzw. falsch niedrigen

Werten kommen, je nachdem ob eine zu dickflüssige oder zu wässrige Galle produziert wird. Auch können eventuelle Exkretionssteigerungen nach den 180 Minuten nicht ausgeschlossen werden.

Da die Bestimmung der total ausgeschiedenen Farbstoffmenge, durch die Möglichkeit eines Galleflusses über den Ductus choledochus via naturalis an der T-Drainage vorbei, als zu fehlerbehaftet erscheint, ist die Messung der biliären ICG-Spitzenkonzentration unter den gegebenen Bedingungen die zuverlässigste Methode zur Bestimmung der hepatischen ICG-Exkretionsleistung.

Die biliäre Exkretion von ICG ist wie die PDR_{ICG} von der Perfusion der Leber abhängig. Allerdings unterschieden sich, wie bereits erwähnt, weder die gemessenen makrohämodynamischen Parameter noch die sonographisch erhobenen Werte der Leberperfusion zwischen den einzelnen Gruppen (siehe 5.1.2.1). Störungen der Aufnahme des Farbstoffes in die Hepatozyten können ebenfalls einen Einfluss auf die gemessene biliäre Konzentration haben. Als alleinige Ursache sind sie nicht ausreichend zur Erklärung der gefundenen – teils massiven – Störungen der biliären ICG-Konzentration. Darüber hinaus wurden auch bei normalen PDR_{ICG} -Werten deutlich verringerte ICG-Spitzenkonzentrationen in der Galle gefunden. Die zwei weiteren notwendigen Schritte zur Ausscheidung des Farbstoffes in die Galle können mit dem hier verwendeten Ansatz nicht voneinander diskriminiert werden. Sowohl der intrazelluläre Transport als auch die Funktion der kanalikulären Transportproteine sind entscheidende Vorgänge, die aber durch die Ermittlung der Konzentration des Farbstoffes in der Galle nicht zu unterscheiden sind. Dennoch ist durch die Messung der biliären ICG-Spitzenkonzentration die wichtige molekularbiologische Differenzierung zwischen der alleinigen Aufnahme von ICG aus dem Blut – reflektiert durch die PDR_{ICG} – und der schlussendlichen Ausscheidung möglich und so ein getrennter Blick auf zwei Hauptmechanismen der ICG-Elimination am lebenden Patienten gegeben.

5.1.4 Gewinnung, Lagerung und Vermessung der Galleproben

Die zu untersuchende Galle wurde aus dem T-Drain der Patienten mittels Einmalspritzen entnommen und in wiederverschließbaren Eppendorf-Tubes gesammelt. Diese wurden nach fertiger Gewinnung bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert. Durch diesen standardisierten Ablauf und da sich ICG in Galle stabil verhält (Bjornsson

et al. 1982), kann davon ausgegangen werden, dass es zu keinen Beeinflussungen der ICG-Konzentration in der Galle kam. Um den patientenindividuellen Unterschieden der Gallezusammensetzung und damit einem eventuell abweichenden Absorbtionsverhaltens bei der Vermessung mittels NanoDrop® gerecht zu werden, wurde für jeden Patienten mittels der blanken Galle eine eigene Kalibriergerade erstellt, die zur Berechnung der endgültigen ICG-Gallekonzentration diente. Die Aufarbeitung und Vermessung der Proben wurde immer von der gleichen Person durchgeführt und folgte einem standardisierten Ablauf. Die nötigen ICG-Lösungen wurden jeweils frisch angemischt, um die Einflüsse der physikochemischen Transformationen des Farbstoffes zu minimieren (Holzer et al. 1998). Jede Probe wurde 3-mal im NanoDrop® vermessen und ein Mittelwert errechnet. Hierdurch sollten externe Einflüsse wie zum Beispiel Tropfengröße und -form sowie weitere stochastische Fehlerquellen bei der spektrophotometrischen Ausmessung reduziert werden.

5.1.5 „Routine“-Labor

Die Untersuchungen der serologischen Blutparameter wurden alle im Rahmen der routinemäßigen intensivmedizinischen Behandlung durchgeführt. Bei der späteren Auswertung wurden jeweils die Werte, welche am zeitnahesten zu der PDR_{ICG} -Messung ermittelt wurden, dokumentiert. Hierbei kann es zu geringen Unterschieden zwischen den einzelnen Patienten gekommen sein, welche jedoch keinen wesentlichen Einfluss auf die Auswertung erwarten lassen.

Die Vermessung der einzelnen Laborwerte erfolgte im klinisch-chemischen Labor bzw. im hämostaseologischen Labor des Universitätsklinikums Jena und wurde den üblichen Qualitätskontrollen unterzogen.

5.1.6 Gallefluss

Von den insgesamt 46 untersuchten Patienten war zum Untersuchungszeitpunkt nur bei 36 eine Gallegewinnung möglich. Bei den restlichen 10 Patienten lag kein ausreichender Gallefluss aus der T-Drainage vor. Es wäre möglich, dass bei diesen Patienten die T-Drainage ungünstig lag, abgeknickt oder verstopft war oder etwa der Hauptgallengang zu groß war, was eine Gallegewinnung verhinderte. Da bei allen 10 Patienten im weiteren Verlauf des Aufenthalts auf der Intensivstation aber ausreichende Mengen an

Galleflüssigkeit im Drainagebeutel abgeleitet wurden, könnte auch eine anfängliche Galleproduktionsstörung im Rahmen einer verzögerten Transplantatfunktionsaufnahme vorgelegen haben.

Da sich beide Eventualitäten nicht ausschließen lassen, wurde eine getrennte Untersuchung der Patienten durchgeführt. Im ersten Auswertungszweig wurde unter der Annahme einer korrekt liegenden T-Drainage bei den Patienten ohne Gallefluss zum Untersuchungszeitpunkt die biliäre ICG-Ausscheidung mit 0 ng/ μ l angenommen und alle 46 Patienten zur Auswertung der biliären ICG-Exkretion herangezogen. Im zweiten Auswertungszweig wurden nur die 36 Patienten betrachtet, bei denen eine Gallegewinnung mit anschließender Konzentrationsbestimmung von ICG in der Galle möglich war.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 PDR_{ICG} und die biliäre Ausscheidung von ICG

Bezüglich der Hauptfragestellung – nach der klinischen Bedeutung von Störungen der hepatischen Elimination von ICG unter pathophysiologisch-frühinflammatorischen Bedingungen am Beispiel der Lebertransplantation – zeigten sich sowohl im 90-Tage-Überleben der Patienten als auch im 90-Tage-Transplantatüberleben zwar tendenzielle, aber keine signifikanten Unterschiede der PDR_{ICG} in den Patientengruppen. Signifikant unterschied sich die PDR_{ICG} in der Untersuchung zum Vorliegen bzw. Fehlen einer EAD.

Die biliäre ICG-Spitzenkonzentration unterschied sich dagegen in allen Outcome-Kategorien signifikant bei gutem bzw. schlechtem Outcome.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die PDR_{ICG} – trotz bereits deutlich eingeschränkter biliärer Exkretionsleistung der Leber – in der frühinflammatorischen Leberschädigungsphase beim Menschen noch normal bzw. nur gering reduziert sein kann. Ähnliche Ergebnisse waren bereits an Tieren im Endotoxinmodell gefunden worden (Okabe et al. 2003, Stehr et al. 2005).

Die ermittelten PDR_{ICG} -Werte der Patienten sind Ausdruck einer weitgehend ungestörten Leberperfusion sowie einer normalen Funktion des sinusoidalen ICG-Transports. Die zum Zeitpunkt der Bestimmung –12 Stunden nach Reperfusion –

gemessenen PDR_{ICG} -Werte legen eine weitgehend ungestörte exkretorische Leberfunktion nahe.

Dennoch zeigte die Untersuchung der Sekretion von ICG in die Galle bei einigen Patienten eine stark reduzierte biliäre ICG-Spitzenkonzentration. Diese Dysfunktion der biliären Exkretionsleistung ist Ausdruck einer gestörten Funktion von intrazellulären Transportvorgängen bzw. der kanalikulären Membran und korreliert signifikant mit dem Überleben der Patienten ($p=0,024$), dem Transplantatüberleben ($p=0,014$) und einer EAD ($p=0,043$).

Die ROC-Analyse dieser Arbeit kann die Ergebnisse früherer Arbeiten an teils anderen Patientengruppen nicht bestätigen. Sakka et al. bzw. Kortgen et al. ermittelten bei kritisch kranken Intensivpatienten bzw. Patienten mit septischem Schock eine AUC von 0,815 bzw. 0,810 und Inal et al. errechneten eine AUC von 0,765 für die PDR_{ICG} bei septischen Patientengruppen und bewerteten die prognostische Aussagekraft der PDR_{ICG} als positiv (Inal et al. 2009, Sakka et al. 2002, Kortgen et al. 2009). Für die postoperative Prognosebeurteilung der PDR_{ICG} – ermittelt am 7. postoperativen Tag – hinsichtlich Transplantatverlust und Patiententod ermittelten Schneider et al. eine AUC von 0,847 (Schneider et al. 2011).

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich die 12 Stunden nach Reperfusion des transplantierten Organs gemessene PDR_{ICG} mit einer AUC von 0,58 als weniger gut geeignet hinsichtlich einer Prognoseeinschätzung und muss zurückhaltend hinsichtlich ihrer Aussagekraft zu Patientenversterben bzw. Organverlust beurteilt werden.

Für die biliäre ICG-Spitzenkonzentration ergab sich dagegen eine AUC von 0,785 ($p=0,039$). Damit ist sie neben dem SOFA-Score vom 3. postoperativen Tag (s.u.) und dem Quotienten biliäres Bilirubin/Serumbilirubin (AUC 0,836) der einzige Parameter mit einer signifikanten Vorhersagekraft (Sensitivität 70% ; Spezifität 80%).

Es ist somit festzustellen, dass trotz Outcome-relevanter Störung der Leberexkretionsleistung – gemessen anhand der biliären ICG-Spitzenkonzentration – die PDR_{ICG} keine Aussage zur Prognose des Überlebens der Patienten oder des Transplantates liefern konnte sowie die schon bestehende Leberschädigung nicht hinreichend abbildete.

Bei normalen PDR_{ICG} -Werten muss von einer ungestörten Aufnahme des Farbstoffes in die Hepatozyten ausgegangen werden. Eine verringerte biliäre Exkretion von ICG weist in diesem Zusammenhang auf einen gestörten transzellulären Transport des Farbstoffes und/oder auf dessen gestörte Sekretion in die Galle hin.

Die Mechanismen des intrazellulären Transports von ICG sind noch nicht endgültig geklärt. Es werden sowohl der membrangebundene Weg als auch ein vesikulärer Transport entlang des Zytoskeletts diskutiert (Ott 1998, Sathirakul et al. 1993). Spezifische Störungen sind bisher kaum beschrieben. 1993 berichteten Sathirakul et al., dass auf Grund einer Anhäufung von Bilirubinglucuroniden der transzelluläre Transport von ICG gestört sein kann und der Farbstoff in so genannten „deep compartments“ abgelagert wird (Sathirakul et al. 1993). Des Weiteren ist der transzelluläre ICG-Transport an die Umsetzung von energiereichen Phosphatverbindungen gebunden und so vom Energiestatus der Zelle abhängig. Dieser kann in spezifisch-pathologischen Situationen gestört sein (s.u.).

Auch die endgültige Exkretion des Farbstoffes in die Galle über den MDR3-Transporter ist ein ATP-abhängiger Prozess. Chijiwa et al. zeigten, dass die biliäre ICG-Exkretion signifikant mit dem hepatischen ATP-Gehalt assoziiert ist. Dagegen fand sich keine Korrelation des ATP-Spiegels mit der PDR_{ICG} (Chijiwa et al. 2002, Chijiwa et al. 2000), ein Ergebnis, das durch die Tatsache erklärbar ist, dass die transportproteingebundene Aufnahme von ICG durch OATP1 ein ATP-unabhängiger Prozess ist.

Es ist bekannt, dass durch die kalte und warme Ischämiezeit während einer Organtransplantation der zelluläre Metabolismus gestört wird. So fanden Paxian et al. in einer Arbeit an Ratten zur hepatozellulären Ischämie nach 3-stündiger hämorrhagischer Hypotension einen reduzierten hepatischen ATP-Gehalt (Paxian et al. 2003). Auch unter septischen Bedingungen ist der hepatische Energiestoffwechsel beeinträchtigt. Bei einer Untersuchung an endotoxämischen Ratten fanden Morikawa et al. heraus, dass es schon in der frühen hyperdynamen Phase des septischen Geschehens trotz Hyperglykämie zu einer signifikanten Abnahme des hepatischen ATPs und des Glukosegehalts der Hepatozyten kommt (Morikawa et al. 1998). Auch Pelias und Townsend sowie Recknagel et al. konnten verringerte ATP-Spiegel der Leber in der akuten Phase einer Endotoxämie bzw. Sepsis bei Ratten aufzeigen (Pelias und Townsend 1992, Recknagel et al. 2012).

Es ist also durchaus vorstellbar, dass es z.B. in Folge eines Ischämie-Reperfusionsschadens über eine endotoxin- bzw. inflammationsgetriggerte Beeinträchtigung des hepatischen Energiestoffwechsels in der Frühphase nach Lebertransplantation zu einer isolierten Exkretionsstörung von ICG bei noch normaler PDR_{ICG} kommen könnte.

Des Weiteren sind auch direkte Beeinflussungen der Lebertransportsysteme durch verschiedene Faktoren bekannt. In mehreren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die ICG-relevanten Transporter OATP1 und MDR3 sensitiv auf Entzündungsmediatoren reagieren. Sowohl für LPS, als auch für IL-6 und IL-1 β sind Herabregulierungen der Membranproteine mit einhergehender gestörter ICG-Elimination beschrieben (Beno et al. 2001, Bolder et al. 1997, Hartmann et al. 2002, Hartmann et al. 2001, Lund et al. 1999, Sharma et al. 2008). Eine neuere Arbeit konnte erstmals eine sehr differenzierte Regulierung der Transportproteine darstellen. Es wurde an Leberdünnschnitten 6h bzw. 24h nach Inkubation mit einem Zytokinmix demonstriert, dass die Expressionsraten der Gene für die basolateralen und kanalikulären Transporter unterschiedlich auf diese Beeinflussung ansprechen. Während der basolaterale ICG-Transporter OATP1 unter diesen Bedingungen sogar heraufreguliert wird, ist die Expression von MDR3 signifikant reduziert (Kortgen et al. 2009). Gonnert et al. konnten zeigen, dass bei septischen Ratten 15h nach Sepsisinduktion eine Akkumulation von ICG in der Leber der Ratten stattfindet (Gonnert et al. 2013). Während sich die Aufnahme von ICG nur gering beeinträchtigt zeigte, war die biliäre Exkretion deutlich gestört. Recknagel et al. konnten darüber hinaus zeigen, dass die Struktur der kanalikulären Membran mit ihren Mikrovilli massiv gestört ist und Transportproteine aus der Membran ausgebaut werden (Recknagel et al. 2012)

Diese Ergebnisse lassen eine höhere Vulnerabilität der kanalikulären Membranproteine auf pathologische Einflüsse vermuten und könnten die bereits frühzeitig auftretende spezifische Schädigung der ICG-Exkretion in die Galle mit erklären. Eine Outcome-relevante Organschädigung, wie sie z.B. auch für Ischämie-Reperfusionsschäden mit entzündungsmediator-getriggelter Pathologie beschrieben ist (Bremer et al. 1994, Nakamura et al. 1999), könnte sich also bereits im frühen Stadium durch eine gestörte biliäre ICG-Exkretion äußern, während aufgrund der geringeren Vulnerabilität der basolateralen Transportsysteme gegenüber den Störfaktoren die PDR_{ICG} noch nicht pathologisch verändert ist.

Es bieten also sowohl der gestörte Energiemetabolismus der Hepatozyten, das differenzierte Expressionsverhalten der hepatozellulären Transportproteine aufgrund von Zytokin- und Endotoxin-vermittelten Einflüssen, als auch die gestörten strukturel-

len Veränderungen der kanalikulären Membran eine Erklärungsbasis für die gefundenen Daten.

Die Tatsache, dass sowohl in der Betrachtung des 90-Tage-Patientenüberlebens als auch des 90-Tage-Transplantatüberlebens die biliäre ICG-Ausscheidung bereits 12 Stunden nach Organreperfusion signifikant gestört war, ist ein wichtiges Indiz dafür, dass bereits zu diesem frühen Zeitpunkt klinisch und laborchemisch noch nicht detektierbare Organstörungen vorgelegen haben, die sich langfristig auf das Überleben der Patienten ausgewirkt haben könnten.

Aufgrund der weitgehend uneingeschränkten Elimination von ICG aus dem Blut – PDR_{ICG} normal bzw. nur gering reduziert – bei gestörter Exkretion des Farbstoffes in die Galle bei Patienten mit schlechten Outcome, muss eine Akkumulation des Stoffes in den Hepatozyten angenommen werden, wie sie durch Gonnert et al. für septische Ratten bereits beschrieben wurde (Gonnert et al. 2013). Eine solche intrazelluläre Anhäufung könnte auch für andere Substanzen gelten. So sind für eine Vielzahl von hepatischen Transportproteinen, wie z.B. für das als Xenobiotika-Eliminator wichtige MDR1-Transportprotein (auch P-Glykoprotein genannt) oder für die prototypische Bilirubin-Pumpe MRP2 Up- bzw. Down-Regulierungen unter inflammatorischen Einflüssen beschrieben (Hartmann et al. 2002, Recknagel 2006, Trauner et al. 2005, Zollner et al. 2001). Im komplexen Zusammenspiel von Expressionsveränderungen der Transportproteine, zellulären ATP-Mangel und anderen zellulären Stressfaktoren könnte es gerade im Rahmen der oft nötigen intensivmedizinischen Bemühungen mit vielfach einhergehender Polymedikation zu unerwarteten Medikamentenwirkungen, Medikamentenspiegeln und iatrogenen Organschädigungen aufgrund von intrazellulären Akkumulationen der Arzneien kommen. Zur genaueren Aufklärung solcher Vorgänge sind weitere Forschungsarbeiten notwendig.

Aus den erhobenen Daten dieser Studie kann gefolgert werden, dass die Messung der PDR_{ICG} zumindest im frühen, unmittelbar postoperativen Verlauf nach Lebertransplantation zu einer Überbewertung der Leberexkretionsleistung und Unterschätzung einer schon bestehenden hepatozellulären Dysfunktion führen kann. Insofern muss die Wertigkeit des Verfahrens unter diesen Bedingungen kritisch betrachtet werden und der Schlussfolgerung von Stehr et al. aus ihren tierexperimentellen Untersuchungen, dass

„normale PDR_{ICG} -Werte unter frühen, akuten inflammatorischen Bedingungen mit Vorsicht zu interpretieren sein“ (Stehr et al. 2005), muss Nachdruck verliehen werden.

Folgebestimmung der PDR_{ICG} zu späteren Zeitpunkten mit Betrachtung des Verlaufs der PDR_{ICG} können die Aussagekraft des Verfahrens erhöhen, da im weiteren klinischen Verlauf mit persistierenden oder fortschreitenden Organdysfunktionen schließlich auch die Elimination des Indikatorfarbstoffes ICG aus dem Blut beeinträchtigt wird (Levesque et al. 2009, Schneider et al. 2011).

Trotz der in dieser Arbeit dargelegten Einschränkungen der PDR_{ICG} kann die Bestimmung der PDR_{ICG} ein wichtiges diagnostisches Mittel zur Prognoseabschätzung und Therapieplanung bei Leberdysfunktion im postoperativen Bereich sowie bei kritisch kranken Patienten bleiben. Sie ist den herkömmlichen Laborparametern überlegen und durch ihre bettseitige Anwendbarkeit ein praktisches Hilfsmittel im klinischen Alltag (Gonnert et al. 2012, Kortgen et al. 2010).

Den erhobenen Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zufolge sollte aber eine kritische Betrachtung der klinischen Begleitumstände auch bei normalen PDR_{ICG} -Messwerten erfolgen, da Störungen der exkretorischen Leberfunktion unterschätzt werden können.

Die Messung biliärer Konzentrationen von ICG ist, wenn technisch möglich, wie hier bei liegender biliärer T-Drainage, geeignet zusätzliche relevante Informationen zur Exkretionsleistung der Leber zu liefern.

5.3.2 Bilirubin

Das endogene Stoffwechselerzeugnis Bilirubin ist als Marker und Diagnostikum von Leberfunktionsstörungen lange bekannt und evaluiert (Kramer et al. 2007). Dennoch muss gerade in der wichtigen Frühphase akuter Leberfunktionsstörungen festgestellt werden, dass die Bestimmung der Serumbilirubinwerte keine verlässliche Aussage hinsichtlich Beginn und Schwere der Erkrankung ermöglicht, und oft ein langsam reagierender Parameter ist (Sakka et al. 2002, Gottlieb et al. 1984, Pollack et al. 1979, Kortgen et al. 2004).

Auch in dieser Arbeit zeigte sich das Serumbilirubin als wenig geeignet, eine frühe Organschädigung der Leber anzuzeigen. Sowohl im frühen Zeitfenster 12 Stunden nach Transplantation als auch an allen 7 Nachbeobachtungstagen der ersten postoperativen

Woche konnte kein Unterschied des Serumbilirubins in Bezug auf das 90-Tage-Überleben oder das 90-Tage-Transplantatüberleben gefunden werden, und somit keinerlei Aussage zur Prognose der Patienten getroffen werden.

In der Untersuchung des Bilirubins in der ausgeschiedenen Galle der ersten 24h fand sich ein Trend zu niedrigeren Werten bei Patienten mit schlechtem Outcome, ein signifikantes Niveau wurde aber knapp nicht erreicht (90-Tage-Überlebende vs. Verstorbene: $2580,9 \pm 2030,9$ [1942 ; 1238-3660] $\mu\text{mol/l}$ vs. $963,4 \pm 1387,4$ [183 ; 0-2317] $\mu\text{mol/l}$; $p=0,058$). Da das ausgeschiedene Bilirubin in der Galle u.a. auch vom prähepatischen Bilirubinangebot, d.h. der Höhe des Serumbilirubins abhängen kann, wurde im 3. Schritt zur Auswertung der Bilirubinausscheidung der Quotient aus biliären Bilirubin zu Serumbilirubin vom ersten postoperativen Tag berechnet. Hier zeigten sich signifikante Unterschiede. Sowohl im 90-Tage-Überleben also auch 90-Tage-Transplantatüberleben hatten Patienten mit schlechtem Outcome niedrigere Werte und der Quotienten biliäres Bilirubin/Serumbilirubin zeigte in der ROC-Analyse mit einer AUC von 0,836 eine gute prognostische Wertigkeit hinsichtlich der 90-Tage-Mortalität.

Ausgehend von diesen Daten kann angenommen werden, dass auch bei der Ausscheidung des endogenen Stoffwechselerzeugnisses Bilirubin eine selektive Vulnerabilität der einzelnen Exkretionsschritte gegenüber den Schädigungen im Rahmen eines frühen Ischämie-Reperfusionsschadens besteht, da wir bei den Patienten immer einen hohen Anteil von direktem, konjugiertem Bilirubin gefunden haben. So könnte die hier gefundene, signifikant reduzierte Ratio von biliären Bilirubin und Serumbilirubin bedeuten, dass bei Patienten mit schlechtem Outcome schon zu dem frühen Zeitpunkt nach Transplantation eine relevante Beeinträchtigung der kanalikulären Ausscheidung der Bilirubinstoffwechselprodukte bestand, während die Aufnahme in den Hepatozyten und die Konjugation des Bilirubins geringer beeinträchtigt waren. Des Weiteren könnte auch eine Beeinträchtigung der – für die schlussendliche Sekretion essentiellen – intrazellulären Konjugationsschritte von Bilirubin zu diesen Befunden beitragen.

Auch in der klassischen Leberchirurgie sind schon ähnliche Befunde beschrieben worden. Kurumiya et al. fanden bei Patienten nach hepatobiliärer Resektion erheblich reduzierte Bilirubinkonzentrationen in der Galle ohne signifikante Serumbilirubinerhöhung. (Kurumiya et al. 2003). Ebenso fanden Recknagel et al. in einem Sepsis-Modell an Ratten eine Bilirubinakkumulation in den Hepatozyten 15h nach Sepsisinduktion (Recknagel et al. 2012).

Die Bilirubinausscheidung lässt sich analog zu der ICG-Exkretion auch in drei Hauptschritte unterteilen: Sinusoidale Aufnahme aus dem Blut in die Hepatozyten, intrazelluläre Konjugation und Transport sowie die kanalikuläre Ausscheidung in die Galle. Wie auch beim ICG ist der erste Schritt energie-unabhängig, die beiden anschließenden Vorgänge aber ATP bzw. UTP verbrauchend. Somit könnte die bereits im vorangestellten Abschnitt zur PDR_{ICG} beschriebene Beeinträchtigung des hepatischen Energiestoffwechsels im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens die gestörte Bilirubinexkretion bei wenig veränderten Plasmaspiegeln mit erklären.

Des Weiteren besteht auch bei den prototypischen Bilirubintransportern OATP2 und MRP2 eine selektive Anfälligkeit gegenüber zytokinvermitteltem Stress. Sowohl in Tiermodellen, als auch an menschlichen Hepatozyten sind unter Induktion mit LPS, IL-6 und IL-1 Herabregulierungen von OATP2 bzw. MRP2 beschrieben (Nakamura et al. 1999, Sharma et al. 2008, Hartmann et al. 2002, Siewert et al. 2004, Hisaeda et al. 2004, Elferink et al. 2004). Kortgen et al. deuteten an, dass es auch für die Bilirubin-Transporter – analog zu ihren Ergebnissen für die ICG-Transporter OATP1 und MDR3 – einen zeitlichen sowie quantitativen Unterschied in der Herabregulierung der Membranmoleküle geben könnte. So wären die klinischen Ergebnisse dieser Arbeit, mit einer gestörten Bilirubinexkretion, durchaus auch durch eine frühere Schädigung der MRP2-Expression im Vergleich zu OATP2 zu erklären.

Die klinisch-laborchemisch hier ermittelten Ergebnisse zeigen also neben der ICG-Elimination auch für das körpereigene Produkt Bilirubin differenzierte Muster der frühen Leberfunktionsstörung nach Transplantation auf.

5.3.3 Intensivmedizinische Scores

Im Rahmen der klinischen Einschätzung intensivmedizinisch betreuter Patienten stellen sowohl der APACHE II-Score, als auch der SAPS II und der SOFA-Score wichtige Hilfsmittel dar. In der vorliegenden Arbeit wurden der APACHE II-Score und SAPS II in den ersten 24h nach Reperfusion und der SOFA-Score für die ersten drei postoperativen Tage ausgewertet.

Wurden diese Scoresysteme ursprünglich zur Einteilung von Organversagen (SOFA) bzw. der Abschätzung von Krankheitsschwere (APACHE II, SAPS II) entworfen, sind sie inzwischen auch wichtige Hilfsmittel hinsichtlich der Vorhersage der Mortalitäts-wahrscheinlichkeit der Patienten (Wehler et al. 2001, Tsai et al. 2003, Wong et al. 2010, Kortgen et al. 2009, Ferreira et al. 2001, Kavli et al. 2012, Schrem et al. 2012).

Alle Scoreparameter zeigten zumindest Trends zu höheren Werten bei schlechtem Outcome, statistisch signifikant unterschieden sich im 90-Tage-Patientenüberleben aber nur der SOFA-Score am 1. und 3. postoperativen Tag sowie im 90-Tage-Transplantatüberleben der SOFA-Score an allen 3 Tagen und der SAPS II in den Patientengruppen. Bei Patienten mit einer EAD waren alle Scores signifikant erhöht.

In einer Arbeit von Sakka et al. mit 336 kritisch kranken Patienten mit Leberdysfunktion ergaben sich bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten Mittelwerte \pm Stw von 63 ± 13 vs. 75 ± 17 für den SAPS II, 28 ± 5 vs. 31 ± 7 für den APACHE II-Score und 12 ± 3 vs. 14 ± 3 für den SOFA-Score mit $p < 0,01$. Die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Werte liegen im Schnitt niedriger als bei der eben erwähnten Untersuchung. Ursachen hierfür sind hauptsächlich im isolierten Patientengut dieser Arbeit mit seltener bestehendem Multiorganversagen zu sehen, welches sich auf die Werte der komplexen Scores auswirkt. Basile-Filho et al. fanden bei 63 Patienten nach Lebertransplantation Werte für den APACHE II-Score von 14 ± 5 vs. 25 ± 10 für Überlebende vs. Nichtüberlebende (Basile-Filho et al. 2011). Diese Werte sind mit den hier gefundenen Ergebnissen vergleichbar. Auch die hier ermittelten Werte des SOFA-Scores sind mit den Ergebnissen einer Untersuchung von Shrem et al. an 88 lebertransplantierten Patienten vergleichbar (Schrem et al. 2012).

Die in mehreren Arbeiten nachgewiesene prognostische Wertigkeit der Scoresysteme hinsichtlich Mortalität, wie u.a. von Sakka et al. (AUC APACHE II: 0,65 ; SAPS II: 0,755 ; $p < 0,05$) (Sakka et al. 2002) und Shrem et al. (AUC SOFA-Score 1.po Tag: 0,89 ; 2. p.op.Tag: 0,87 ; 3. p.op. Tag: 0,86 ; $p < 0,01$) (Schrem et al. 2012) berichtet, spiegeln sich in unserem Patientenkollektiv weitgehend wider. Es ergaben sich für den APACHE II-Score mit einer AUC von 0,739 und für SAPS II 0,751 vergleichbare Werte, allerdings ohne statistisch signifikante, sondern nur mit tendenziellen Unterschieden ($p = 0,084$ bzw. 0,069). Den einzig signifikanten Wert bezüglich der Vorhersage des 90-Tage-Überleben erreichte in dieser Arbeit der SOFA-Score am 3. postoperativen Tag (AUC 0,854; $p = 0,011$).

Betrachtet man die Werte für das 90-Tage-Transplantatüberleben, welche aufgrund der höheren Ereigniszahlen (8 Transplantatverluste) statistisch robustere Daten liefern, zeigen sich sowohl für den SAPS II (AUC 0,752 ; $p=0,027$) als auch für den SOFA-Score (AUC 1. p.op. Tag 0,801; $p=0,013$; 3. p.op. Tag 0,846; $p=0,04$) signifikante Gruppenunterschiede und für den APACHE II-Score (AUC 0,719; $p=0,54$) ein Trend hinsichtlich prognostischer Aussagekraft.

Im Einklang mit den Auswertungen vieler anderer Untersuchungen erreichen auch im vorliegenden Kollektiv die intensivmedizinischen Scores einen hohen Stellenwert in der Abschätzung des Outcomes der Patienten und sind den herkömmlichen Laborparametern sowie auch der PDR_{ICG} überlegen.

5.3.4 Der Gallefluss

Der Gallefluss ist schon seit langem als Marker für den Organschaden nach Lebertransplantation bekannt (Bowers et al. 1986, Kamiike et al. 1985) und als globales Diagnostikum für den Ischämie-Reperfusionsschaden beschrieben (Gonzalez et al. 1994, Karwinski et al. 1994, Sheth et al. 2011).

Auch in dieser Arbeit konnte eine Korrelation des Galleflusses mit dem Patienten-Outcome gefunden werden. Patienten, bei denen es im 90-Tage-Nachbeobachtungszeitraum zum Transplantatverlust kam, schieden signifikant geringere Gallenmengen aus (Transplantatverlust vs. Transplantatüberleben [MW \pm SD]; Gallenmenge vom ersten komplett protokolliertem Tag: 254 ± 218 ml vs. 111 ± 165 ml ; $p=0,038$).

Außerdem zeigte der Vergleich der 10 Patienten ohne anfänglichen Gallefluss mit den 36 Patienten mit initialem Gallefluss ein signifikant häufigeres Versterben der Patienten ohne Gallefluss im 90-Tage-Intervall ($p=0,035$). Des Weiteren lagen diese Patienten signifikant länger auf der Intensivstation (28 ± 39 Tage vs. 11 ± 16 Tage; $p=0,038$) und hatten höhere intensivmedizinische Scores (1. postoperativer Tag: APACHE II-Score: 24 ± 8 vs. 16 ± 6 ; $p=0,001$; SAPS II: 56 ± 22 vs. 31 ± 18 ; $p=0,001$; SOFA-Score: 13 ± 4 vs. 7 ± 4 ; $p<0,001$). Dementsprechend könnte bei den Patienten mit beeinträchtigtem Gallefluss bereits ein Outcome-relevanter Organschaden vorgelegen haben, der seine

Ursache in einem gestörtem Energiemetabolismus im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens haben könnte (Gonzalez et al. 1994, Kamiike et al. 1985).

Für die Ausscheidung der Galleflüssigkeit sind die Perfusion der Leber, die Aufnahme, der intrazelluläre Transport und die Exkretion der gallebildenen Substanzen ins Gallengangssystem wichtige Faktoren. Letzteres ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Galleproduktion und ATP-abhängig (Erlinger 1982, Trauner und Boyer 2003). Hierbei spielen die Gallesalzpumpe BSEP für den gallesalzabhängigen Gallefluss und die Transporter AE2 und MRP2 für den gallesalzunabhängigen Gallefluss die tragende Rolle (Trauner und Boyer 2003). Es ist bekannt, dass es im Rahmen eines Ischämie-Reperfusionsschadens u.a. durch Zytokinwirkungen zu Veränderungen der entscheidenden membrangebundenen Transportproteine kommt (Hartmann et al. 2002, Diao et al. 2010), die sich in einem reduzierten Gallefluss äußern können. So sind sowohl für MRP2 (Ban et al. 2009, Sui et al. 2010) als auch für BSEP (Diao et al. 2010, Elferink et al. 2004) Herabregulierungen unter inflammatorischen Einflüssen beschrieben. Mikrozirkulationsstörungen scheinen in dieser frühen Phase dagegen keinen Einfluss auf den Gallefluss zu haben (Ban et al. 2009).

Es ist also durchaus denkbar, dass der beeinträchtigte Gallefluss seine Ursache in der gestörten Funktionsweise der hepatischen Membrantransportproteine – basierend auf einem Ischämie-Reperfusionsschaden – haben könnte.

6 Schlussfolgerung

Die vielfach vorbeschriebenen positiven Evaluationen zur Wertigkeit der PDR_{ICG} -Bestimmung im Rahmen einer Lebertransplantation konnten in dieser Arbeit nur teilweise bestätigt werden. Unseren Ergebnissen zufolge kann die PDR_{ICG} in der Frühphase nach Lebertransplantation eine eventuell vorhandene hepatozelluläre Dysfunktion nicht immer ausreichend abbilden, so dass es zur Unterschätzung einer bereits bestehenden hepatozellulären Dysfunktion kommen kann. Diese Limitation der PDR_{ICG} sollte bei der Behandlung von Patienten nach Lebertransplantation in die kritische Betrachtung der gesamten klinischen Situation mit einbezogen werden.

Dagegen zeigt die biliäre Konzentration von ICG als Parameter der biliären Exkretion bereits 12 Stunden nach Transplantation eine gute prognostische Vorhersagekraft bezüglich des Patientenversterbens und konnte frühzeitig Outcome-relevante Funktionsstörungen der Leber abbilden.

Falls eine Gallegangsdrainage vorhanden ist, ist die Gewinnung von Galle im Rahmen der postoperativen Nachbetreuung lebertransplantierte Patienten technisch einfach möglich und es können durch die Messung der biliären ICG-Konzentration zusätzlich wichtige und prognostisch bedeutende Informationen über die Exkretionsleistung der Leber ermittelt werden. Dies könnte ein Ansatz sein, die postoperative Behandlung der transplantierten Patienten durch noch zeitigere Detektion einer beginnenden hepatozellulären Dysfunktion weiter zu verbessern.

Die beschriebene gestörte biliäre Exkretion von ICG bei weitgehend unbeeinträchtigter plasmatischer Elimination legt eine Akkumulation des Farbstoffes in den Hepatozyten nahe, wie sie im Tiermodell einer Sepsis bereits gezeigt werden konnte. Eine solche Akkumulation könnte auch für andere Stoffe gelten. So könnte es bei der postoperativ notwendigen Polymedikation von transplantierten Patienten sowie bei der oftmals notwendigen polymedikamentösen Behandlung kritisch kranker Patienten zu einer hepatozellulären Anhäufungen der verabreichten Xenobiotika mit potentiell schädigenden Auswirkungen im Sinne eines „Drug-induced liver injury“ (DILI) kommen. Unerwartete Medikamentenspiegel und unerwünschte Medikamentenwirkungen könnten die Folge sein und sogar iatrogene Organschädigungen könnten so verursacht werden. Zur genaueren Aufklärung solcher Vorgänge und der damit einhergehenden Möglichkeit der weiteren Verbesserung der Behandlung von Patienten ist noch weitere experimentelle sowie klinische Forschungsarbeit notwendig.

7 Literatur und Quellenverzeichnis

- Abdala E, Baia CES, Mies S, Massarollo PCB, Cavolheiro NP, Baia VRM, Inacio CAF, Sef HC, Barone AA. 2007. Bacterial translocation during liver transplantation: A randomized trial comparing conventional with venovenous bypass vs. piggy-back methods. *Liver Transplantation*, 13 (4):488-496.
- Adam R, Karam V, Delvart V, O'Grady J, Mirza D, Klempnauer J, Castaing D, Neuhaus P, Jamieson N, Salizzoni M, Pollard S, Lerut J, Paul A, Garcia-Valdecasas JC, Rodriguez FSJ, Burroughs A, Elita. 2012. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). *Journal of Hepatology*, 57 (3):675-688.
- Ban D, Kudo A, Sui S, Tanaka S, Nakamura N, Ito K, Suematsu M, Arai S. 2009. Decreased Mrp2-dependent bile flow in the post-warm ischemic rat liver. *Journal of Surgical Research*, 153 (2):310-316.
- Basile-Filho A, Nicolini EA, Auxiliadora-Martins M, Alkmim-Teixeira GC, Martinez EZ, Martins-Filho OA, de Castro e Silva O. 2011. Comparison of acute physiology and chronic health evaluation II death risk, Child-Pugh, Charlson, and model for end-stage liver disease indexes to predict early mortality after liver transplantation. *Transplant Proc*, 43 (5):1660-1664.
- Beno DW, Uhing MR, Goto M, Chen Y, Jiyamapa-Serna VA, Kimura RE. 2001. Endotoxin-induced reduction in biliary indocyanine green excretion rate in a chronically catheterized rat model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 280 (5):G858-865.
- Benya R, Quintana J, Brundage B. 1989. Adverse reactions to indocyanine green - a case-report and a review of the literature. *Catheterization and Cardiovascular Diagnosis*, 17 (4):231-233.
- Bjornsson OG, Murphy R, Chadwick VS. 1982. Physicochemical studies of indocyanine green (ICG) - absorbance concentration relationship, pH tolerance and assay precision in various solvents. *Experientia*, 38 (12):1441-1442.
- Bolder U, Ton-Nu HT, Schteingart CD, Frick E, Hofmann AF. 1997. Hepatocyte transport of bile acids and organic anions in endotoxemic rats: Impaired uptake and secretion. *Gastroenterology*, 112 (1):214-225.
- Bowers BA, Branum GD, Rotolo FS, Meyers WC. 1986. Bile-Flow - an Index of Ischemic-Injury. *Gastroenterology*, 90 (5):1715-1715.
- Bremer C, Bradford BU, Hunt KJ, Knecht KT, Connor HD, Mason RP, Thurman RG. 1994. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of hepatic reperfusion injury. *Am J Physiol*, 267 (4 Pt 1):G630-636.

- Bundesärztekammer Richtlinien für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lebertransplantation gem. § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2 u. 5 TPG <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/RiliOrgaLeber20130308.pdf>.
- Carski TR, Staller BJ, Hepner G, Banka VS, Finney RA. 1978. Adverse reactions after administration of indocyanine green. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 240 (7):635-635.
- Cherrick GR, Stein SW, Leevy CM, Davidson CS. 1960. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest*, 39:592-600.
- Chijiwa K, Watanabe M, Nakano K, Noshiro H, Tanaka M. 2000. Biliary indocyanine green excretion as a predictor of hepatic adenosine triphosphate levels in patients with obstructive jaundice. *American Journal of Surgery*, 179 (2):161-166.
- Chijiwa K, Mizuta A, Ueda J, Takamatsu Y, Nakamura K, Watanabe M, Kuroki S, Tanaka M. 2002. Relation of biliary bile acid output to hepatic adenosine triphosphate level and biliary indocyanine green excretion in humans. *World J Surg*, 26 (4):457-461.
- Christoph H, Johann P, Gero P, Ulf N, Andreas P, Winfried V-S, Peter N. 2010. Incidence of and risk factors for ischemic-type biliary lesions following orthotopic liver transplantation. *Transplant International*, 23 (1):14-22.
- ConsensusConference. 2006. Consensus conference: Indications for Liver Transplantation, January 19 and 20, 2005, Lyon-Palais Des Congres: text of recommendations (long version). *Liver Transpl*, 12 (6):998-1011.
- Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D. 2001. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (13):9626-9630.
- Desley AHN, Stefan GH. 2002. Histologic and biochemical changes during the evolution of chronic rejection of liver allografts. *Hepatology*, 35 (3):639-651.
- Diao L, Li N, Brayman TG, Hotz KJ, Lai Y. 2010. Regulation of MRP2/ABCC2 and BSEP/ABCB11 expression in sandwich cultured human and rat hepatocytes exposed to inflammatory cytokines TNF- α , IL-6, and IL-1 β . *J Biol Chem*, 285 (41):31185-31192.
- Duffy JP, Hong JC, Farmer DG, Ghobrial RM, Yersiz H, Hiatt JR, Busuttil RW. 2009. Vascular Complications of Orthotopic Liver Transplantation: Experience in More than 4,200 Patients. *Journal of the American College of Surgeons*, 208 (5):896-903.
- Elferink MG, Olinga P, Draaisma AL, Merema MT, Faber KN, Slooff MJ, Meijer DK, Groothuis GM. 2004. LPS-induced downregulation of MRP2 and BSEP in human liver is due to a posttranscriptional process. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 287 (5):G1008-1016.

- Erlinger S. 1982. Does Na⁺-K⁺-Atpase Have Any Role in Bile Secretion. *American Journal of Physiology*, 243 (4):G243-G247.
- Escorsell À, Mas A, Fernández J, García-Valdecasas JC. 2012. Limitations of Use of the Noninvasive Clearance of Indocyanine Green as a Prognostic Indicator of Graft Function in Liver Transplantation. *Transplantation proceedings*, 44 (6):1539-1541.
- Faber KN, Müller M, Jansen PLM. 2003. Drug transport proteins in the liver. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55 (1):107-124.
- Faybik P, Krenn CG, Baker A, Lahner D, Berlakovich G, Steltzer H, Hetz H. 2004. Comparison of invasive and noninvasive measurement of plasma disappearance rate of indocyanine green in patients undergoing liver transplantation: a prospective investigator-blinded study. *Liver Transpl*, 10 (8):1060-1064.
- Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Melot C, Vincent JL. 2001. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 286 (14):1754-1758.
- Fox IJ, Brooker LGS, Heseltine DW, Wood EH. 1956. A new dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Circulation*, 14 (5):937-938.
- Fox IJ, Brooker LGS, Heseltine DW, Essex HE, Wood EH. 1957. A tricarbo-cyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Proceedings of the Staff Meetings of the Mayo Clinic*, 32 (18):478-484.
- Fresenius M, Heck M. 2006. *Repetitorium Intensivmedizin*. Springer Medizin Verlag Heidelberg 2001, 2006.
- Gershwin ME, Manns MP, Vierling JM. 2007. *Liver Immunology Principles and Practice* Totowa, NJ: Humana Press Inc.
- Gonnert F, Bauer M, Kortgen A. 2012. Current aspects of diagnostics of hepatic dysfunction in critically ill. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 137 (43):2212-2216.
- Gonnert FA, Recknagel P, Hilger I, Claus RA, Bauer M, Kortgen A. 2013. Hepatic excretory function in sepsis: implications from biophotonic analysis of transcellular xenobiotic transport in a rodent model. *Crit Care*, 17 (2):R67.
- Gonzalez FX, Rimola A, Grande L, Antolin M, Garcia-Valdecasas JC, Fuster J, Lacy AM, Cugat E, Visa J, Rodes J. 1994. Predictive factors of early postoperative graft function in human liver transplantation. *Hepatology*, 20 (3):565-573.
- Gottlieb ME, Stratton HH, Newell JC, Shah DM. 1984. INDOCYANINE GREEN - ITS USE AS AN EARLY INDICATOR OF HEPATIC-DYSFUNCTION FOLLOWING INJURY IN MAN. *Archives of Surgery*, 119 (3):264-268.
- Hakim NS, Danovitch GM. 2001. *Transplant Surgery*. Springer Verlag London Berlin Heidelberg.

- Hartmann G, Kim H, Piquette-Miller M. 2001. Regulation of the hepatic multidrug resistance gene expression by endotoxin and inflammatory cytokines in mice. *International Immunopharmacology*, 1 (2):189-199.
- Hartmann G, Cheung AKY, Piquette-Miller M. 2002. Inflammatory Cytokines, but Not Bile Acids, Regulate Expression of Murine Hepatic Anion Transporters in Endotoxemia. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303 (1):273-281.
- Hisaeda K, Inokuchi A, Nakamura T, Iwamoto Y, Kohno K, Kuwano M, Uchiumi T. 2004. Interleukin-1 β represses MRP2 gene expression through inactivation of interferon regulatory factor 3 in HepG2 cells. *Hepatology*, 39 (6):1574-1582.
- Holzer W, Mauerer M, Penzkofer A, Szeimies RM, Abels C, Landthaler M, Baumler W. 1998. Photostability and thermal stability of indocyanine green. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 47 (2-3):155-164.
- Hopeross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA, Krupsky S, Orlock DA, Puliafito CA. 1994. ADVERSE REACTIONS DUE TO INDOCYANINE GREEN. *Ophthalmology*, 101 (3):529-533.
- Huang L, Vore M. 2001. Multidrug resistance p-glycoprotein 2 is essential for the biliary excretion of indocyanine green. *Drug Metab Dispos*, 29 (5):634-637.
- ICG-Pulsion®-Arzneimittelinformation. 2000.
- Inal MT, Memis D, Kargi M, Sut N. 2009. Prognostic value of indocyanine green elimination assessed with LiMON in septic patients. *J Crit Care*, 24 (3):329-334.
- Jedlitschky G, Leier I, Buchholtz U, HummelEisenbeiss J, Burchell B, Keppler D. 1997. ATP-dependent transport of bilirubin glucuronides by the multidrug resistance protein MRP1 and its hepatocyte canalicular isoform MRP2. *Biochemical Journal*, 327:305-310.
- Kamiike W, Nakahara M, Nakao K, Koseki M, Nishida T, Kawashima Y, Watanabe F, Tagawa K. 1985. Correlation between Cellular Atp Level and Bile Excretion in the Rat-Liver. *Transplantation*, 39 (1):50-55.
- Karwinski W, Garcia R, Helton WS. 1994. Allopurinol Dose Is Important for Attenuation of Liver Dysfunction after Normothermic Ischemia - Correlation between Bile-Flow and Liver-Enzymes in Circulation. *Research in Experimental Medicine*, 194 (5):321-327.
- Kavli M, Strom T, Carlsson M, Dahler-Eriksen B, Toft P. 2012. The outcome of critical illness in decompensated alcoholic liver cirrhosis. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 56 (8):987-994.
- Kimura S, Yoshioka T, Shibuya M, Sakano T, Tanaka R, Matsuyama S. 2001. Indocyanine green elimination rate detects hepatocellular dysfunction early in septic shock and correlates with survival. *Crit Care Med*, 29 (6):1159-1163.

- Kortgen A, Lindemann W, Bauer M. 2004. [Monitoring of plasma disappearance rate of indocyanine green in a patient with necrotizing fasciitis and septic shock]. *Dtsch Med Wochenschr*, 129 (48):2590-2593.
- Kortgen A, Recknagel P, Bauer M. 2010. How to assess liver function? *Current Opinion in Critical Care*, 16 (2):136-141.
- Kortgen A, Paxian M, Werth M, Recknagel P, Rauchfuss F, Lupp A, Krenn CG, Müller D, Claus RA, Reinhart K, Settmacher U, Bauer M. 2009. Prospective assessment of hepatic function and mechanisms of dysfunction in the critically ill. *Shock*, 32 (4):358-365.
- Kotsch K, Ulrich F, Reutzel-Selke A, Pascher A, Faber W, Warnick P, Hoffman S, Francuski M, Kunert C, Kuecuk O, Schumacher G, Wesslau C, Lun A, Kohler S, Weiss S, Tullius SG, Neuhaus P, Pratschke J. 2008. Methylprednisolone therapy in deceased donors reduces inflammation in the donor liver and improves outcome after liver transplantation: a prospective randomized controlled trial. *Ann Surg*, 248 (6):1042-1050.
- Kramer L, Jordan B, Druml W, Bauer P, Metnitz PG. 2007. Incidence and prognosis of early hepatic dysfunction in critically ill patients--a prospective multicenter study. *Crit Care Med*, 35 (4):1099-1104.
- Kurumiya Y, Nagino M, Nozawa K, Kamiya J, Uesaka K, Sano T, Yoshida S, Nimura Y. 2003. Biliary bile acid concentration is a simple and reliable indicator for liver function after hepatobiliary resection for biliary cancer. *Surgery*, 133 (5):512-520.
- Land WG. 2006. *Immunsuppressive Therapie : 66 Tabellen*. Stuttgart [u.a.]: Thieme.
- Landsman ML, Kwant G, Mook GA, Zijlstra WG. 1976. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green. *Journal of Applied Physiology*, 40 (4):575-583.
- Langrehr JM, Schneller A, Neuhaus R, Vogl T, Hintze R, Neuhaus P. 1998. [Etiologic factors and incidence of ischemic type biliary lesions (ITBL) after liver transplantation]. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd*, 115:1560-1562.
- Levesque E, Saliba F, Benhamida S, Ichai P, Azoulay D, Adam R, Castaing D, Samuel D. 2009. Plasma disappearance rate of indocyanine green: a tool to evaluate early graft outcome after liver transplantation. *Liver Transpl*, 15 (10):1358-1364.
- Lewandowski J, Leitschuh S, Koß V. 1997. *Schadstoffe im Boden: eine Einführung in Analytik und Bewertung*. Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York.
- LIMON-Pulsion®Fachinformationen. 2002. LIMON-Pulsion® Fachinformationen
- Lund M, Kang L, Tygstrup N, Wolkoff AW, Ott P. 1999. Effects of LPS on transport of indocyanine green and alanine uptake in perfused rat liver. *Am J Physiol*, 277 (1 Pt 1):G91-100.

- Meijer DK, Weert B, Vermeer GA. 1988. Pharmacokinetics of biliary excretion in man. VI. Indocyanine green. *Eur J Clin Pharmacol*, 35 (3):295-303.
- Molinari M, Berman K, Meeberg G, Shapiro JA, Bigam D, Trotter JF, Kneteman N. 2009. Multicentric outcome analysis of sirolimus-based immunosuppression in 252 liver transplant recipients. *Transplant International*, 23 (2):155-168.
- Morikawa S, Inubushi T, Takahashi K, Ishii H, Ozawa K. 1998. Gluconeogenesis and phosphoenergetics in rat liver during endotoxemia. *J Surg Res*, 74 (2):179-186.
- Moser MAJ, Wall WJ. 2001. Management of biliary problems after liver transplantation. *Liver Transplantation*, 7 (11):S46-S52.
- Mueller AR, Platz KP, Haak M, Undi H, Muller C, Kottgen E, Weidemann H, Neuhaus P. 1996. The release of cytokines, adhesion molecules, and extracellular matrix parameters during and after reperfusion in human liver transplantation. *Transplantation*, 62 (8):1118-1126.
- Nakamura J, Nishida T, Hayashi K, Kawada N, Ueshima S, Sugiyama Y, Ito T, Sobue K, Matsuda H. 1999. Kupffer cell-mediated down regulation of rat hepatic CMOAT/MRP2 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun*, 255 (1):143-149.
- Neuhaus P, Pfitzmann R, Berg T. 2005. Aktuelle Aspekte der Lebertransplantation. 2. Aufl. Aufl. Bremen [u.a.]: UNI-MED Verl.
- Okabe A, Hirota M, Kimura Y, Maeda K, Ogawa M. 2003. Functional disturbance of biliary indocyanine green excretion in rat cerulein pancreatitis followed by endotoxemia: role of the prime and the second attack. *JOP*, 4 (5):178-183.
- Olmedilla L, Perez-Pena JM, Ripoll C, Garutti I, de Diego R, Salcedo M, Jimenez C, Banares R. 2009. Early noninvasive measurement of the indocyanine green plasma disappearance rate accurately predicts early graft dysfunction and mortality after deceased donor liver transplantation. *Liver Transpl*, 15 (10):1247-1253.
- Olthoff KM, Kulik L, Samstein B, Kaminski M, Abecassis M, Emond J, Shaked A, Christie JD. 2010. Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transpl*, 16 (8):943-949.
- Ott P. 1998. Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding. *Pharmacol Toxicol*, 83 Suppl 2:1-48.
- Paxian M, Bauer I, Rensing H, Jaeschke H, Mautes AE, Kolb SA, Wolf B, Stockhausen A, Jeblick S, Bauer M. 2003. Recovery of hepatocellular ATP and "pericentral apoptosis" after hemorrhage and resuscitation. *FASEB J*, 17 (9):993-1002.
- Pelias ME, Townsend MC. 1992. In vivo [³¹P]NMR assessment of early hepatocellular dysfunction during endotoxemia. *J Surg Res*, 52 (5):505-509.

- Pillay SP, Wynter C, Lynch S, Wall D, Balderson G, Strong R. 1997. Endotoxin levels in donors and recipients during orthotopic liver transplantation. *Aust N Z J Surg*, 67 (4):187-191.
- Pollack DS, Sufian S, Matsumoto T. 1979. Indocyanine green clearance in critically ill patients. *Surgery Gynecology & Obstetrics*, 149 (6):852-854.
- Prahl S. 1998. Optical Absorption of Indocyanine Green (ICG) Newsletter blog biomedical optics photomedicine medical lasers bio-photonics optical diagnostics therapy imaging spectroscopy.
- Recknagel P. 2006. Expressionsprofile basolateraler und canaliculärer Transportproteine als Pathomechanismus der Exkretionsstörung der Leber bei systemischer Entzündung. Unveröffentlichte Diplomarbeit.
- Recknagel P, Gonnert FA, Westermann M, Lambeck S, Lupp A, Rudiger A, Dyson A, Carre JE, Kortgen A, Krafft C, Popp J, Sponholz C, Fuhrmann V, Hilger I, Claus RA, Riedemann NC, Wetzker R, Singer M, Trauner M, Bauer M. 2012. Liver dysfunction and phosphatidylinositol-3-kinase signalling in early sepsis: experimental studies in rodent models of peritonitis. *PLoS Med*, 9 (11):e1001338.
- Rydberg L. 2001. ABO-incompatibility in solid organ transplantation. *Transfusion Medicine*, 11 (4):325-342.
- Sakka SG, Meier-Hellmann A. 2002. Non-invasive liver function monitoring by indocyanine green plasma disappearance rate in critically ill patients. *International Journal of Intensive Care Med*:66-72.
- Sakka SG, Reinhart K, Meier-Hellmann A. 2002. Prognostic value of the indocyanine green plasma disappearance rate in critically ill patients. *Chest*, 122 (5):1715-1720.
- Sakka SG, Koeck H, Meier-Hellmann A. 2004. Measurement of indocyanine green plasma disappearance rate by two different dosages. *Intensive Care Med*, 30 (3):506-509.
- Sathirakul K, Suzuki H, Yasuda K, Hanano M, Tagaya O, Horie T, Sugiyama Y. 1993. Kinetic analysis of hepatobiliary transport of organic anions in Eisai hyperbilirubinemic mutant rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 265 (3):1301-1312.
- Schneider L, Spiegel M, Latanowicz S, Weigand MA, Schmidt J, Werner J, Stremmel W, Eisenbach C. 2011. Noninvasive indocyanine green plasma disappearance rate predicts early complications, graft failure or death after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 10 (4):362-368.
- Schrem H, Reichert M, Reichert B, Becker T, Lehner F, Kleine M, Bektas H, Johanning K, Strassburg CP, Klempnauer J. 2012. Value of the SOFA score as a predictive model for short-term survival in high-risk liver transplant recipients with a pre-transplant labMELD score ≥ 30 . *Langenbecks Archives of Surgery*, 397 (5):717-726.

- Sharma R, Kacevska M, London R, Clarke SJ, Liddle C, Robertson G. 2008. Downregulation of drug transport and metabolism in mice bearing extra-hepatic malignancies. *Br J Cancer*, 98 (1):91-97.
- Sheth H, Hafez T, Glantzounis GK, Seifalian AM, Fuller B, Davidson BR. 2011. Glycine maintains mitochondrial activity and bile composition following warm liver ischemia-reperfusion injury. *J Gastroenterol Hepatol*, 26 (1):194-200.
- Siewert E, Dietrich CG, Lammert F, Heinrich PC, Matern S, Gartung C, Geier A. 2004. Interleukin-6 regulates hepatic transporters during acute-phase response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 322 (1):232-238.
- Starzl TE, Waddell WR, Marchioro TL, Hermann G, Vonkaulla KN, Brittain RS. 1963. Homotransplantation of Liver in Humans. *Surgery Gynecology & Obstetrics*, 117 (6):659-&.
- Stehr A, Ploner F, Traeger K, Theisen M, Zuelke C, Radermacher P, Matejovic M. 2005. Plasma disappearance of indocyanine green: a marker for excretory liver function? *Intensive Care Med*, 31 (12):1719-1722.
- Stratta RJ, Wood RP, Langnas AN, Hollins RR, Bruder KJ, Donovan JP, Burnett DA, Lieberman RP, Lund GB, Pillen TJ, Markin RS, Shaw BW. 1989. Diagnosis and treatment of biliary-tract complications after orthotopic liver-transplantation. *Surgery*, 106 (4):675-684.
- Sui S, Kudo A, Suematsu M, Tanaka S, Nakamura N, Ito K, Arai S. 2010. Preservation solutions alter Mrp2-dependent bile flow in cold ischemic rat livers. *Journal of Surgical Research*, 159 (1):572-581.
- Torres-Quevedo R, Moya-Herraiz A, San Juan F, Lopez-Andujar R, Montalva E, Pareja E, De Juan M, Vila JJ, Aguilera V, Pina R, Berenguer M, Prieto M, Mir J. 2009. Indications for and results of liver retransplantation. *Transplant Proc*, 41 (3):1016-1017.
- Trauner M, Boyer JL. 2003. Bile salt transporters: Molecular characterization, function, and regulation. *Physiological Reviews*, 83 (2):633-671.
- Trauner M, Wagner M, Fickert P, Zollner G. 2005. Molecular regulation of hepatobiliary transport systems - Clinical implications for understanding and treating cholestasis. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 39 (4):S111-S124.
- Tsai MH, Chen YC, Ho YP, Fang JT, Lien JM, Chiu CT, Liu NJ, Chen PC. 2003. Organ system failure scoring system can predict hospital mortality in critically ill cirrhotic patients. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 37 (3):251-257.
- Tsubono T, Todo S, Jabbour N, Mizoe A, Warty V, Demetris AJ, Starzl TE. 1996. Indocyanine green elimination test in orthotopic liver recipients. *Hepatology*, 24 (5):1165-1171.
- Vishal S, Mostafa S, Jun S. 2003. Degradation kinetics of indocyanine green in aqueous solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92 (10):2090-2097.

- Vos JJ, Scheeren TW, Lukes DJ, de Boer MT, Hendriks HG, Wietasch JK. 2013. Intraoperative ICG plasma disappearance rate helps to predict absence of early postoperative complications after orthotopic liver transplantation. *J Clin Monit Comput.*
- Wehler M, Kokoska J, Reulbach U, Hahn EG, Strauss R. 2001. Short-term prognosis in critically ill patients with cirrhosis assessed by prognostic scoring systems. *Hepatology*, 34 (2):255-261.
- Wong CS, Lee WC, Jenq CC, Tian YC, Chang MY, Lin CY, Fang JT, Yang CW, Tsai MH, Shih HC, Chen YC. 2010. Scoring Short-Term Mortality After Liver Transplantation. *Liver Transplantation*, 16 (2):138-146.
- Zollner G, Fickert P, Zenz R, Fuchsbichler A, Stumptner C, Kenner L, Ferenci P, Stauber RE, Krejs GJ, Denk H, Zatloukal K, Trauner M. 2001. Hepatobiliary transporter expression in percutaneous liver biopsies of patients with cholestatic liver diseases. *Hepatology*, 33 (3):633-646.

8 Anhang

8.1 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist, ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind, mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr PD. Dr. A. Kortgen, PD. Dr. F. Rauchfuß, Dr. P. Recknagel, die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum Unterschrift des Verfassers

8.2 Lebenslauf

Name: Martin Siering

Geburtsdatum: 17.05.1984

Geburtsort: Suhl

Arbeitstätigkeit / akademische Forschung

- 01/2012 – 07/2013 wissenschaftlicher Mitarbeiter / Assistenzarzt
Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
FSU Jena , Leiter: Prof. Dr. med. K. Reinhart
- ab 07/2007 Dissertation in der Arbeitsgruppe experimentelle
Anästhesie
Klinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
FSU Jena , Leiter: Prof. Dr. med. K. Reinhart
Betreuer: PD. Dr. med. A. Kortgen

Schulbildung und Studium

- 06/2011 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung,
Gesamtnote Staatsexamen: 1,8
- 08/2006 Erste ärztliche Prüfung, Note: Sehr Gut
- ab 10/2004 Medizinstudium an der Friedrich Schiller Universität
Jena
- 1994-2003 Johann-Gottfried Herder Gymnasium Suhl
Abitur Note: Sehr Gut 1,5
- 1991-1994 Grundschule Suhl

Praktika

- 10/ 2010 PJ- Tertian an der FSU Jena / Anästhesie
- 06/ 2010 PJ- Tertian am Sophien- und Hufeland Klinikum
Weimar /
Unfallchirurgie - Orthopädie

02/ 2010	PJ- Tertial am Helios Klinikum Erfurt / Innere Medizin
10/ 2009	1 Monat Famulatur in Radiologischer Gemeinschafts- praxis Suhl
08 / 2008	1 Monat Famulatur am MTH Hospital Pokhara - Nepal
03 / 2008	1 Monat Famulatur an der FSU Jena / Anästhesie
04 / 2007	1 Monat Famulatur im SRH Klinikum Suhl / Chirurgie

Sonstige Tätigkeiten

10/2005 – 07/2006	Mentorentätigkeit an der medizinischen Fakultät der FSU Jena
04 / 2005 – 07 / 2006	Studentische Hilfskraft im Institut für Anatomie der SU Jena
07 / 2003 – 04 /2004	Zivildienst SRH Klinikum Suhl / Chirurgie

Publikationen:

Rauchfuss F, Baerthel E, Paxian M, **Siering M**, Kortgen A, Kornberg A, Bauer M, Settmacher U. 2008. PROSTACYCLINES AMELIORATE THE GRAFT FUNCTION AFTER LIVER TRANSPLANTATION - AN ANALYSIS OF BILIARY INDOCYANINE GREEN-EXCRETION. Liver Transplantation, 14 (7):S73-S73.

Rauchfuss F, Kortgen A, **Siering M**, Baerthel E, Voigt R, Heise M, Bauer M, Settmacher U. 2009. BILIARY INDOCYANINE GREEN EXCRETION - AN ADDITIONAL USEFUL TOOL FOR THE ASSESSMENT OF ALLOGRAFT FUNCTION AFTER LIVER TRANSPLANTATION. Liver Transplantation, 15 (7):S174-S174.

8.3 Danksagung

Abschließend möchte ich mich bei den Menschen bedanken, ohne deren Unterstützung die Durchführung dieser Untersuchung nicht möglich gewesen wäre.

Neben dem Dank an alle Mitarbeiter der KAI Jena gilt besonderer Dank Herrn PD. Dr. A. Kortgen, Herrn PD. Dr. M. Paxian, Herrn PD. Dr. F. Rauchfuß sowie Herrn Dr. P. Recknagel für die hervorragende Betreuung während der Durchführung und Erstellung dieser Arbeit.

Weiterhin danke ich meiner Freundin Lisa-Maria Buhleemann für die orthografischen Hilfestellungen und meinen Eltern für immerwährende Unterstützung.

Gewidmet meinen Eltern