

Aus der Klinik für Nephrologie und Rheumatologie
(Prof. Dr. med. G. A. Müller)
im Zentrum Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

Evaluation der Aktivierung von CD4⁺ T-Lymphozyten bei Patienten mit Sepsis und akutem Nierenversagen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Maria Brier

aus
Schwalmstadt

Göttingen 2014

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Koziolk

2. Berichterstatter/in:

3. Berichterstatter/in:

Tag der mündlichen Prüfung:

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	<i>Krankheitsentität: akutes Nierenversagen (ANV).....</i>	2
1.1.1	Definition	2
1.1.2	Epidemiologie.....	4
1.1.3	Ätiologie	5
1.1.4	Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV	6
1.1.5	Klinik und Verlauf	8
1.1.6	Therapie.....	12
1.1.7	Prognose.....	14
1.1.8	Diagnostische Marker	14
1.2	<i>Immunologie des ANV – Stand der Forschung</i>	15
1.3	<i>Zielsetzung.....</i>	18
2	Material und Methoden	20
2.1	<i>Ethikvotum und Datenschutzvotum</i>	20
2.2	<i>Aufklärung und Einwilligung der Patienten.....</i>	20
2.3	<i>Studiendesign.....</i>	20
2.4	<i>Patientenkollektiv.....</i>	22
2.4.1	Klinische Einschlusskriterien	22
2.4.2	Klinische Ausschlusskriterien	22
2.4.3	Diagnosekriterien	22
2.4.4	Zeitraum der Datenerhebung	23
2.5	<i>Klinische Datenerhebung.....</i>	23
2.5.1	Datenschutz	24
2.5	<i>Material und Geräte.....</i>	24
2.6	<i>Funktionsprinzip der Methode: Biolumineszenz.....</i>	25
2.7	<i>Technische Durchführung.....</i>	27
2.7.1	Assay Teil eins: Zellstimulation	27
2.7.2	Assay Teil zwei: CD4 ⁺ -Zellselektion und ATP-Freisetzung.....	28
2.7.3	Assay Teil drei: ATP-Messung.....	29
2.8	<i>Auswertung.....</i>	29
2.8.1	Kriterien der Qualitätskontrolle.....	29
2.8.2	Befundung	30
2.9	<i>Messgrößen zur Evaluation der Nierenfunktion und des physiologischen Zustandes der Patienten.....</i>	31
2.9.1	MDRD-Formel.....	31

2.9.2 SAPS II.....	32
2.9.1 <i>Spezialanalytik</i>	34
2.9.1.1 NGAL	34
2.9.1.2 TNF- α und IL-6	34
2.9.2 <i>Statistische Auswertung</i>	34
3 Ergebnisse	36
3.1 <i>Patienten</i>	36
3.1.1 Demographische Daten.....	37
3.1.2 Komorbiditäten und Erregernachweis.....	37
3.1.3 Einsatz von Vasopressoren	38
3.2 <i>Nierenfunktion und physiologischer Zustand bei Aufnahme und im Verlauf des ICU-Aufenthalts</i>	38
3.2.1 Nierenfunktion.....	38
3.3 <i>Klinisches Ergebnis und Nierenfunktionsparameter bei Entlassung</i>	45
3.4 <i>Evaluation der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten</i> ..	48
3.4.1 ATP-Konzentration von CD4 ⁺ T-Lymphozyten während des Krankenhausaufenthalts	51
3.4.2 ATP-Konzentration CD4 ⁺ T-Lymphozyten bei Entlassung	52
3.5 <i>Spezialanalytik</i>	54
3.5.1 NGAL.....	55
3.5.2 TNF- α	59
3.5.3 IL-6.....	60
4 Diskussion	62
4.1 <i>Forschungsdesign</i>	62
4.2 <i>Methodik und Repräsentativität der Daten</i>	63
4.2.1 Entwicklung und Anwendungsgebiete des ImmuKnow®.....	63
4.2.2 Grenzen der Methode.....	64
4.2.2.1 Bisherige Ergebnisse des Testverfahrens	65
4.2.3 Patientenkollektiv.....	66
4.3 <i>Ergebnisse</i>	66
4.3.1 Nierenfunktion.....	66
4.3.2 Klinisches Ergebnis.....	67
4.3.3 ATP-Konzentration CD4 ⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten	68
4.3.3.1 ATP-Konzentration CD4 ⁺ T-Lymphozyten und Überleben	69
4.3.3.2 ATP-Konzentration CD4 ⁺ T-Lymphozyten und klinisches Ergebnis	69
4.3.3.3 Zusammenfassung und Teststärkeanalyse	70
4.3.4 Spezialanalytik: NGAL, TNF- α , IL-6 zu drei Zeitpunkten.....	71
4.4 <i>Neue diagnostische Marker des ANV</i>	72

4.4.1 Rolle der ATP-Konzentration von CD4 ⁺ T-Lymphozyten.....	74
4.4.2 Bezug zu aktuellen Forschungsergebnissen.....	75
4.7 Schlussfolgerung / Ausblick.....	76
5 Zusammenfassung	77
6 Anhang.....	79
7 Literaturverzeichnis.....	83

Abkürzungsverzeichnis

AIDS – *Acquired Immune Deficiency Syndrome*

ALT – Alanin-Aminotransferase

ANOVA – *Analysis of Variance*

ANV – akutes Nierenversagen

AP – alkalische Phosphatase

aPTT – aktivierte partielle Thromboplastinzeit

ARDS – *Adult Respiratory Distress Syndrome*

AST – Aspartat-Aminotransferase

ATP – Adenosintriphosphat

BK – Blutkultur

BMI – *Body Mass Index*

BNP – *Brain Natriuretic Peptide*

CK – Kreatinkinase

CRP – C-reaktives Protein

DSG – Deutsche Sepsis-Gesellschaft e. V.

EA - Ethikantrag

eGFR – *estimated Glomerular Filtration Rate*

GST – Glutathione Transferase

γ -GT – γ -Glutamyltranspeptidase

ICU – *Intensive Care Unit*

IL-1 – Interleukin-1

IL-1 β – Interleukin-1 β

IL-2C – Interleukin-2C

IL-6 – Interleukin-6

IL-8 – Interleukin-8

IL-10 – Interleukin-10

KIM-1 – *Kidney Injury Molecule-1*

L-FABP – *Liver-type Fatty Acid-Binding Protein*

MDRD – *Modifikation of Diet in Renal Disease*

MODS – *Multi Organ Dysfunction Syndrome*

deutsch: Multiorgandysfunktionssyndrom

MW – Mittelwert

NAG – N-Acetyl-Glucosaminidase

NGAL – Neutrophil-Gelatinase-Associated Lipocalin

n.s. – nicht signifikant

NV – Nierenversagen

PHA – Phytohemagglutinin

SAPS II – *Simplified Acute Physiology Score II*

SD – Standardabweichung

SIRS – *Systemic Inflammatory Response Syndrome*

deutsch: systemisches inflammatorisches Response-Syndrom

TK – Trachealkultur

TNF- α – Tumornekrosefaktor-alpha

UK – Urinkultur

UMG – Universitätsmedizin Göttingen

1 Einleitung

Im September 1945 gelang dem Niederländer Willem Kolff mit dem Bau einer künstlichen Niere die erste lebenserhaltende Behandlung einer Frau mit akutem Nierenversagen (ANV) (Sieberth 2002). Das ANV bedeutet allerdings bis heute einen lebensbedrohlichen Zustand für den jeweiligen Patienten. Ungeachtet des medizinischen Fortschritts stellt es aufgrund seiner hohen Letalität eine gefürchtete Komplikation in der Behandlung intensivstationärer Patienten dar. 40 bis 45 Prozent der betroffenen Patienten sterben im Verlauf der Erkrankung (Oppert et al. 2007). Weltweit verursacht das ANV über 4 Millionen Todesfälle im Jahr (Honore et al. 2011). Es tritt mit steigender Inzidenz im Rahmen des Multiorganversagens als Komplikation bei schwerer Sepsis und septischem Schock auf, was die Mortalität auf bis zu 70 Prozent steigen lässt (Oppert et al. 2007). Das Auftreten eines Multiorganversagens geht zu über 40 Prozent mit einem ANV einher (Oppert et al. 2007). Die schwere Sepsis und der septische Schock stellen gemeinsam die häufigste Todesursache intensivstationärer Patienten dar (Singh und Evans 2006). Die Pathophysiologie des Sepsis-induzierten ANV ist komplex und noch nicht vollständig erforscht. Die wichtigsten Vorgänge der endotoxinbedingten systemischen Inflammation beinhalten Veränderungen in der Hämodynamik des gesamten Kreislaufs sowie die Aktivierung vielfältiger Abwehrreaktionen des Körpers.

Die Niere wird als ein hämodynamisch empfindliches Organ hierbei vor allem durch eine generelle Minderperfusion in ihrer Funktion beeinträchtigt. Im Krankheitsverlauf kann dies zum völligen Funktionsverlust führen und den Einsatz eines Nierenersatzverfahrens notwendig machen. Die Schädigungen der Niere betreffen im Besonderen das Endothel und die Tubuluszellen. Durch die Aktivierung des angeborenen Immunsystems kommt es zur Einschwemmung von Entzündungszellen in das Nierenparenchym als pro- und anti-inflammatorische Antwort des Organismus auf die Infektion (Zarjou und Agarwal 2011).

Lymphozyten konnten bereits als wichtige Modulatoren in der Entwicklung eines ANV bei kritisch kranken Patienten identifiziert werden (Hyojung et al. 2010, Burne et al. 2001, Bajwa et al. 2009). Im Zusammenhang mit dem zellulären ATP-Gehalt von

CD4⁺ T-Lymphozyten als Ausdruck der immunologischen Kompetenz der Zelle konnte in einer Studie mit stationär behandelten Sepsis-Patienten eine signifikante Korrelation mit dem Überleben der Patienten gezeigt werden (Lawrence et al. 2010). Eine weitere Studie lässt darauf schließen, dass ein entsprechend hoher zellulärer Energiegehalt von CD4⁺/CD25⁺ T-Lymphozyten die Restitution der Niere nach einer Schädigung durch ein ANV begünstigen kann (Hyojung et al. 2010).

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, den zellulären ATP-Gehalt von CD4⁺ T-Lymphozyten stationär behandelter Patienten im septischen Schock zu drei Zeitpunkten zu evaluieren und die Werte von Patienten mit und ohne Sepsis-induziertem ANV zu vergleichen.

Drei zentrale Fragestellungen liegen der vorliegenden Untersuchung zugrunde:

1. Unterscheidet sich der zelluläre ATP-Gehalt von CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV von Patienten im septischen Schock, die im Verlauf kein ANV entwickelt haben?
2. Korreliert der zelluläre ATP-Gehalt von CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV mit einem durchschnittlich niedrigeren Wert abhängig vom Schweregrad des Nierenversagens?
3. Ist es möglich, durch die Verlaufsbestimmung des ATP-Gehalts von CD4⁺ T-Lymphozyten eine prognostische Aussage bei Patienten mit Sepsis-induziertem ANV zu treffen?

1.1 Krankheitsentität: akutes Nierenversagen (ANV)

1.1.1 Definition

Das ANV ist definitionsgemäß eine plötzlich (innerhalb von Stunden bis Tagen) einsetzende Minderung der Nierenfunktion, die über Tage anhält und generell reversibel ist.

Das Leitsymptom stellt eine oligurische (<500 ml/d) bis anurische (<100 ml/d) Harnsekretion und/oder ein Anstieg des Serumkreatinins um mehr als 50 Prozent des Ausgangswertes dar. Ein Drittel der Fälle geht mit einer normo- oder polyurischen Harnsekretion einher.

Die aktuellen klinischen Kriterien zur Definition eines ANV der Acute Kidney Injury Workgroup umfassen nach Kielstein 2006:

einen abrupten (innerhalb von 48 Stunden entwickelten) Funktionsverlust der Niere mit

- einem Anstieg des Serumkreatininwertes von $>0,3$ mg/dl oder einem Anstieg um 50 Prozent des Ausgangswertes

oder

- eine Reduktion des Urinvolumens (Oligurie von $<0,5$ ml/kg/h für > 6 h).

Durch den Funktionsverlust der Niere folgen ihren unterschiedlichen Funktionen entsprechende Beeinträchtigungen des gesamten Organismus: Es kommt zu einer Retention harnpflichtiger Substanzen wie zum Beispiel Kreatinin und Harnstoff sowie zu Störungen im Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt.

Innerhalb der Entität des ANV werden drei Formen unterschieden:

1. das prärenale ANV,
2. das intrarenale (intrinsische) ANV und
3. das postrenale ANV.

Im Falle des prärenalen ANV verursacht eine verminderte Perfusion der Niere den Funktionsverlust des Organs. Das intrinsische ANV umfasst primäre Schädigungen renaler Strukturen. Beim postrenalen Nierenversagen liegt ein Abflusshindernis in den ableitenden Harnwegen dem Pathomechanismus ursächlich zugrunde.

Mit den RIFLE-Kriterien wurden im Jahr 2004 im Zuge einer internationalen Konsensuskonferenz anhand des Serumkreatininwertes und der Diurese eine einheitliche Definition sowie eine Stadieneinteilung des ANV geschaffen.

Die RIFLE-Kriterien beinhalten die 5 Stadien: Risk, Injury, Failure, Loss und End Stage Kidney Disease (ESRD). Im Jahr 2007 wurden diese Kriterien durch die Einführung der AKIN-Klassifikation weiterentwickelt. Die Einteilung des ANV erfolgt dabei ebenso anhand des Serumkreatininwertes und der Diurese. Allerdings umfassen die AKIN-Stadien nur die ersten drei Stadien der RIFLE-Kriterien. Im Unterschied zu den RIFLE-Kriterien wird schon eine absolute Erhöhung des Serumkreatininwertes von $\geq 0,3$ mg/dl im Stadium eins berücksichtigt. Damit kann eine Nierenschädigung schon frühzeitig erkannt werden, auch wenn der

Serumkreatininwert nur gering ansteigt. Auch ein geringer Anstieg des Serumkreatininwertes ist von Bedeutung, da er mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko verbunden ist (Mehta et al. 2007).

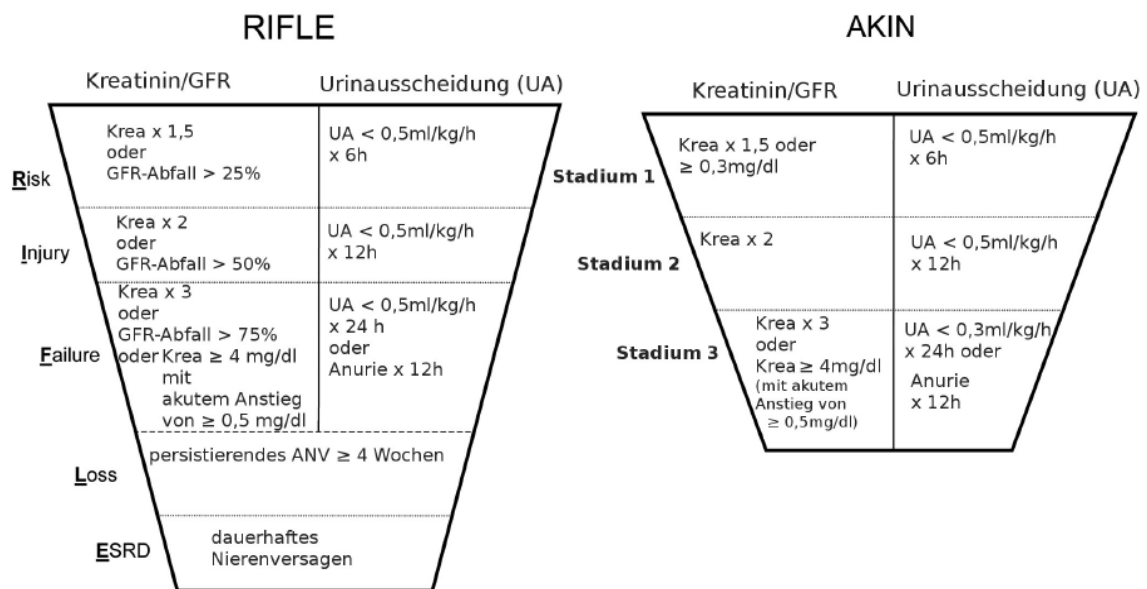


Abbildung 1: RIFLE- und AKIN-Klassifikation

(modifiziert nach "Risk-Injury-Failure Loss-Endstage renal disease (RIFLE) and Acute Kidney Injury Network (AKIN) classifications for acute kidney injury." Cruz et al. 2009)

Dargestellt sind die Klassifikationssysteme "RIFLE" (Risk, Injury, Failure, Loss, ESRD) und "AKIN" (Stadium 1, Stadium 2, Stadium 3) zur Definition des ANV.

1.1.2 Epidemiologie

Die RIFLE-Kriterien liefern eine klare Definition des Symptomkomplexes des ANV. Vor ihrer Einführung im Jahr 2004 wurden unterschiedlichste Kriterien zur Definition des ANV herangezogen. Dies spiegelt sich deutlich in den epidemiologischen Daten zum ANV wider und erklärt die breite Streuung der Angaben zur Prävalenz und Inzidenz des ANV.

Auf der ICU liegt die Prävalenz des ANV insgesamt in einem Bereich von ein bis 70 Prozent (Case et al. 2013). Patienten im septischen Schock entwickeln zu ca. 50 Prozent ein ANV (Schrier und Wang 2004). Die Inzidenz des ANV auf der ICU liegt nach den neusten Daten im Bereich von 20 bis 50 Prozent und ist mit einer Mortalität von über 50 Prozent verbunden (Case et al. 2013, Uchino et al. 2005).

Hierbei ist besonders die Situation von Patienten mit einem multiplen Organversagen herauszustellen: Bei multimorbiden, speziell septischen Patienten mit SIRS ist eine

Zunahme des ANV im Rahmen eines Multiorgandysfunktionssyndroms festzustellen. Im Hinblick auf die Inzidenz des ANV bilden septische Patienten die anteilig größte Gruppe (Case et al. 2013).

1.1.3 Ätiologie

In 88 Prozent der Fälle verursacht hauptsächlich eine akute Tubulusnekrose ein intrinsisches ANV (Case et al. 2013). Allerdings sind die Ursachen des intensivpflichtigen ANV häufig multifaktorieller Ätiologie, sodass die Grenzen der Einteilung des ANV in prärenales ANV und intrinsisches ANV fließend sind (Case et al. 2013).

Im Gegensatz zum intrinsischen ANV ist im Falle eines prärenalen ANV die Funktion der Niere nach der Beseitigung der auslösenden Ursache vollständig reversibel. Auslöser eines prärenalen ANV können ein Blutdruckabfall, eine Hypovolämie oder Elektrolytentgleisung, eine systemische Vasodilatation oder ein Missverhältnis zwischen systemischem und renalem Vasotonus sein.

Dieser Definition folgend ist das Sepsis-induzierte ANV, das vor allem im septischen Schock eine endotoxinbedingte systemische Vasodilatation beinhaltet, in die Kategorie des prärenalen ANV einzuordnen. Allerdings wird es in der Literatur auch als Ursache des intrinsischen ANV aufgeführt (Benad 2011). Dies ist folgendermaßen zu erklären: Die Minderperfusion des renalen Gewebes bedingt durch einen systemischen Blutdruckabfall oder eine Hypovolämie als Ursache eines prärenalen ANV kann zu einer zellulären Dysfunktion der renalen Tubuluszellen führen und in ein intrinsisches ANV übergehen. Obwohl die initiale Hypoperfusion korrigiert wurde, können die Tubuluszellen persistierende ischämische Schäden erleiden. Eine prärenale Azotämie kann fließend in den Zustand einer akuten Tubulusnekrose übergehen (Case et al. 2013, Chvojka et al. 2010).

Die Ursachen des intrinsischen ANV lassen sich 5 Gruppen zuordnen (Jörres D und Jörres A 2011):

- Makrovaskuläre Erkrankungen mit Störungen der arteriellen Nierendurchblutung
- Mikrovaskuläre und glomeruläre Erkrankungen (Glomerulonephritiden, Vaskulitiden, Systemerkrankungen, thrombotische Mikroangiopathien, maligne Hypertonie)

- Tubulointerstitielle Erkrankungen (akute interstitielle Nephritis, bakterielle Infektionen)
- Ischämische akute Tubulusnekrose
- Toxische akute Tubulusnekrose

Das postrenale ANV ist die seltenste Manifestationsform dieses Krankheitsbildes. Eine Obstruktion im Harntrakt führt nur dann zu einem postrenalen ANV, wenn der Harnabfluss beider Nieren beeinträchtigt ist.

1.1.4 Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV

Die Pathophysiologie des Sepsis-induzierten ANV ist bisher nur unvollständig erforscht. Der Großteil unserer Kenntnisse hierzu beruht auf tierexperimentellen Studien, die nur eingeschränkt auf den Menschen übertragbar sind (Chvojka et al. 2010).

Das Versagen der peripheren Kreislaufregulation kann sich bei Patienten mit Sepsis bzw. septischem Schock im Rahmen eines lebensbedrohlichen Multiorgandysfunktionssyndroms (MODS) auf alle lebenswichtigen Organe auswirken und sich an der Niere als ANV manifestieren.

Die pathologischen Prozesse betreffen Veränderungen im renalen Blutfluss, in der Funktion und Struktur der Tubuluszellen, in der glomerulären und peritubulären Mikrozirkulation (Leukozyteninfiltration, Thrombosierung) sowie die Apoptose von Endothelzellen (Chvojka et al. 2010, Benad 2011).

Die hämodynamischen Veränderungen bei Patienten mit Sepsis und septischem Schock beinhalten eine systemische Hypovolämie durch ein erweitertes venöses Kapazitätssystem, eine erhöhte vaskuläre Permeabilität mit einem Flüssigkeitsgefälle in das umliegende Gewebe sowie eine systemische Hypotonie (Chvojka et al. 2010). Neben einer generalisierten Entzündungsreaktion des Organismus wird vor allem die verminderte Perfusion der Niere mit einer daraus resultierenden Ischämie als den renalen Funktionsverlust wesentlich bestimmend betrachtet.

In einer 2005 veröffentlichten Metaanalyse wird allerdings aufgezeigt, dass nur in 62 Prozent, der beurteilten experimentellen Studien, der renale Blutfluss im Falle einer Sepsis und dem Vorliegen eines Sepsis-induziertem ANV vermindert war. In 38 Prozent der Fälle zeigte sich der renale Blutfluss unverändert bis erhöht. In den untersuchten klinischen Studien wurde bei intensivstationären Patienten mit Sepsis insgesamt ein erhöhter renaler Blutfluss gemessen (Langenberg et al. 2005). Ein

generell niedrigerer renaler Blutfluss als zentrales Element in der Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV war nicht zu erkennen. Stattdessen wurde betont, dass der renale Blutfluss auch beim Sepsis-induzierten ANV direkt vom Herzzeitvolumen abhängig ist und somit beispielsweise ein vermindertes Herzzeitvolumen zu einem verminderten renalen Blutfluss führt. In Abhängigkeit vom Herzzeitvolumen kann sich der renale Blutfluss bei diesem Krankheitsgeschehen aber auch gleichbleibend oder erhöht darstellen (Langenberg et al. 2005).

Eine tierexperimentelle Studie gibt Hinweise darauf, dass sowohl eine Veränderung im renalen Blutfluss als auch das Entzündungsgeschehen als individuell dominierender Prozess ein Sepsis-induziertes ANV auslösen kann (Lipcsey und Bellomo 2011). Neben den hämodynamischen Veränderungen spielen Entzündungsmediatoren wie zum Beispiel der TNF- α , reaktive Stickstoffspezies mit ihrer apoptoseinduzierenden Funktion und das angeborene Immunsystem in der Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV eine ebenfalls noch unzureichend erforschte Rolle (Lipcsey und Bellomo 2011). Die histopathologischen Veränderungen im Rahmen eines ANV sind generell eher gering. Beim Sepsis-induzierten ANV wurden zunächst vor allem ischämisch bedingte nekrotische Vorgänge für den renalen Zelluntergang verantwortlich gemacht. Neuere Studien konnten allerdings in erster Linie apoptotische Vorgänge in der Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV ausmachen (Jacobs et al. 2011). Beim ANV nicht septischer Genese allerdings waren nahezu keine apoptotischen Vorgänge beteiligt (Jacobs et al. 2011).

Als ein weiterer Bestandteil im pathologischen Prozess konnte in experimentellen Studien eine Sauerstoffutilisationsstörung im Zusammenhang mit einer mitochondrialen Dysfunktion ausgemacht werden (Singh und Evans 2006). Dies kann zur Entwicklung einer akuten Tubulusnekrose beitragen: Hierbei verlieren die tubulären Zellen ihre Polarität und gehen durch Apoptose zugrunde. Es kommt zur Loslösung von der Basalmembran, wodurch die freien Zellen das Tubuluslumen verstopfen können. Die Zerstörung dieser Zellschicht führt zum Verlust der Barrierefunktion, und es kommt zu einem Rückfluss von Filtrat aus dem Tubuluslumen ins Interstitium (Benad 2011). Eine Vasokonstriktion der renalen Kapillaren durch eine lokale Imbalance vasoaktiver Substanzen (Devarajan 2006) und die Entwicklung einer disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) im Rahmen eines MODS können zur Minderversorgung der Tubuluszellen beitragen und zu hypoxischen Zuständen führen (Benad 2011).

Die Erreger der Sepsis verursachen außerdem das Eindringen mikrobieller Toxine in den Organismus. Es folgt eine weitreichende Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Dies führt zur Sekretion verschiedener Zytokine, vor allem IL-1, TNF- α und IL-6 in einer proinflammatorischen Phase. Diesem Zytokinsturm folgt eine entzündungshemmende Phase mit einer gesteigerten Sekretion von IL-10 (Zarjou und Agarwal 2011, Abbildung 2).

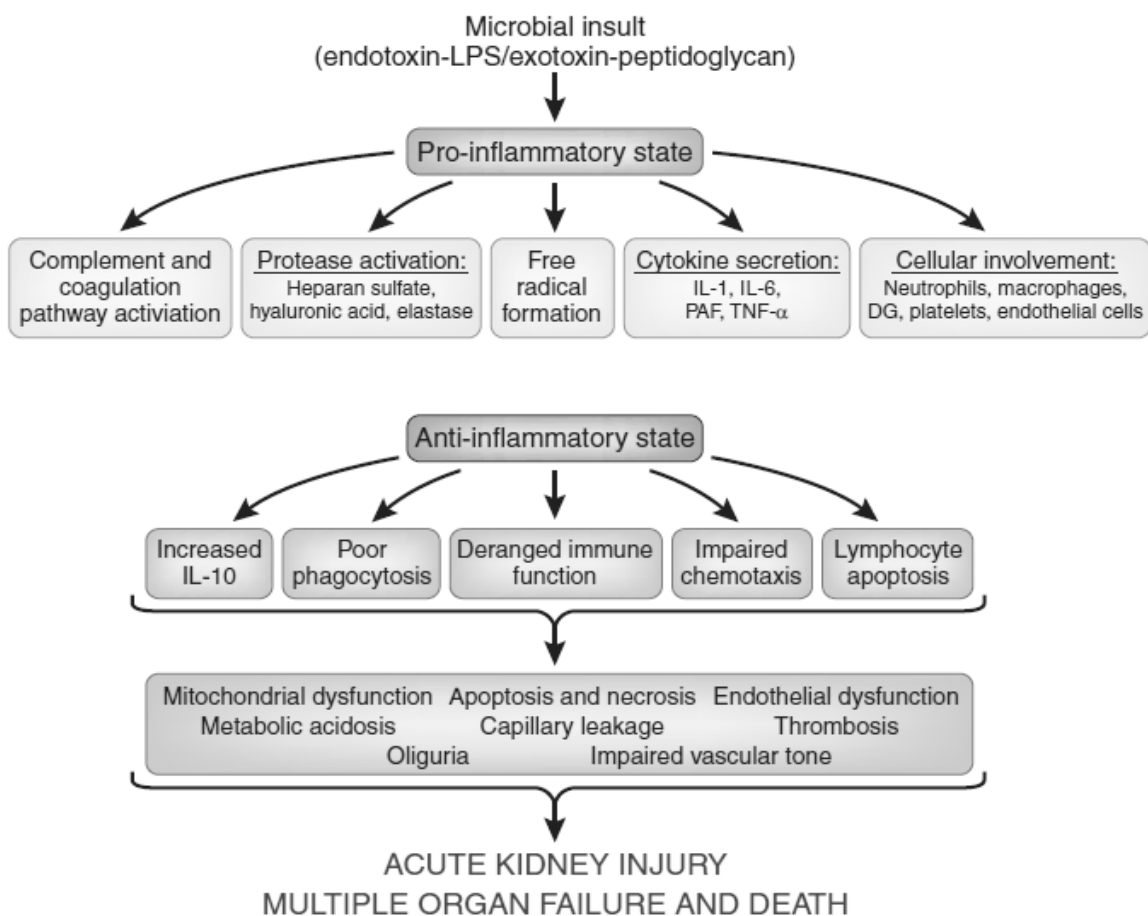


Abbildung 2: Pathophysiologische Schlüsselreaktionen

Dargestellt ist die Abbildung "Key pathogenic pathways involved in the clinical course of sepsis that also have implications in the pathophysiology of sepsis-induced acute kidney injury." aus "Sepsis and Acute Kidney Injury" (Zarjou und Agarwal 2011, S. 1000).

1.1.5 Klinik und Verlauf

Die klinischen Befunde des ANV zeigen vordergründig einen Anstieg der Plasmaharnstoffkonzentration und einen Rückgang der Urinausscheidung (Oligurie < 400 ml/24 h). Der Anstieg der Plasmaharnstoffkonzentration kann isoliert vorkommen oder mit einem gleichzeitigen Anstieg der Plasmakreatininkonzentration einhergehen

(Keller und Geberth 2007). Das eigentliche Leitsymptom der Oligurie oder Anurie kann ausbleiben.

Das ANV wird von Symptomen der führenden Grunderkrankung des Patienten begleitet. Die klinische Symptomatik eines ANV stellt sich unspezifisch dar: Als Beschwerden lassen sich vor allem Müdigkeit und Konzentrationsschwäche, Zeichen der gastrointestinalen Reizung (Übelkeit, Diarrhöe, Emesis) und neurologische Symptome, die von peripheren Muskelfibrillationen und -krämpfen bis hin zu zentralen zerebralen Krampfanfällen und einer Eintrübung des Patienten bei schwerer Azidose reichen können, ausmachen (Keller und Geberth 2007).

Aus der Oligurie bzw. Anurie resultiert das klinische Bild einer Überwässerung des Patienten, was sich in vielerlei Hinsicht manifestieren kann. Abhängig von der kardialen Pumpfunktion kommt es zu einem Blutdruckanstieg, der sich in Kopfschmerzen, Angina pectoris und/oder einer pulmonalen Stauung mit Lungenödem äußern kann. Häufig kommen periphere Ödeme mit einem Anstieg des Körpergewichts durch die Wassereinlagerung vor (Keller und Geberth 2007).

Im Verlauf des ANV werden 4 Phasen unterschieden:

Die **Initial- oder Schädigungsphase** stellt sich in der Regel asymptomatisch dar, gegebenenfalls sind Symptome der Grunderkrankung vorhanden. In dieser Stunden bis Tage andauernden Phase haben prophylaktische und therapeutische Interventionen die beste Prognose (Kielstein 2006). Es folgt die **Phase des manifesten Nierenversagens**. Die Konzentration harnpflichtiger Substanzen im Blut steigt bei persistierender verminderter glomerulärer Filtrationsrate kontinuierlich an. Diese Phase kann ein bis 10 Wochen anhalten. Vital bedrohliche Organkomplikationen können sich entwickeln, die vor allem Störungen des Wasser- (Hyperhydratation, Hirnödem, „fluid lung“), Elektrolyt- (Hyperkaliämie) und Säure-Base-Haushalts (metabolische Azidose) betreffen. Das ANV kann sowohl oligurisch als auch nicht oligurisch verlaufen, sodass man beim Ausbleiben einer Phase der Oligurie auch von einem „nicht oligurisch“ oder „primär polyurisch“ verlaufenden ANV spricht. Das **Stadium der Polyurie** stellt die dritte Phase des ANV dar und dauert Tage bis Wochen an. Es kommt zur Ausscheidung immenser Harnvolumina, die häufig 4 bis 5 Liter täglich umfassen. Mit dem Abfall der Konzentration harnpflichtiger Substanzen im Blut geht auch die Urämiesymptomatik des Patienten zurück. Die Hauptgefahr in dieser Phase besteht

in einer Dehydratation des Patienten mit Verlust von Natrium und Kalium. Diese Komplikation kann mit einer Tachykardie, Fieber, Hypotonie, Apathie und Krämpfen einhergehen und erklärt eine Mortalität von 25 Prozent in dieser Phase.

In der **Rekonvalenzphase**, die bis zu einem Jahr andauern kann, kommt es mit zunehmender Normalisierung der Nierenfunktion auch zur Normalisierung der Retentionswerte. Partialfunktionen der Niere können allerdings lange beeinträchtigt bleiben (Kielstein 2006).

Da die klinische Symptomatik des ANV entscheidend von der Klinik der Grunderkrankung bzw. der das ANV auslösenden Erkrankung geprägt ist, sind beim Sepsis-induzierten ANV auch klinische Befunde der Sepsis zu finden.

Die diagnostischen Kriterien der Sepsis, der schweren Sepsis und des septischen Schocks sind klar definiert. Sie sind in der 2010 veröffentlichten Leitlinie der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e. V. (DSG) (gültig bis 01.02.2015) zu finden, die den heute weltweit verwendeten Kriterien des American College of Chest Physicians (ACCP) und der Society of Critical Care Medicine (SCCM) entspricht. Diese Kriterien umfassen auch relevante klinische Symptome und Befunde, die beim Sepsis-induzierten ANV im Rahmen eines Multiorgandysfunktionssyndroms zu finden sind. Tabelle 1 zeigt relevante Diagnosekriterien zur Definition einer Sepsis, schweren Sepsis und des septischen Schocks.

Kriterium 1	Diagnose einer Infektion <ul style="list-style-type: none"> • mikrobiologischer Nachweis oder <ul style="list-style-type: none"> • klinische Kriterien
Kriterium 2	SIRS (mind. 2 Kriterien müssen erfüllt sein): <ul style="list-style-type: none"> • Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$) • Tachykardie: Herzfrequenz $\geq 90/\text{min}$ • Tachypnoe (Frequenz $\geq 20/\text{min}$) oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 32\text{mmHg}$ bzw. $\leq 4,3\text{ kPa}$) • Leukozytose ($\geq 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\text{mm}^3$) oder \geq unreife Neutrophile im Differenzialblutbild
Kriterium 3	Akute Organdysfunktion (mind. 1 Kriterium muss erfüllt sein): <ul style="list-style-type: none"> • akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium • Relative oder absolute Thrombozytopenie: Abfall der Thrombozyten um mehr als 30 Prozent innerhalb von 24h oder Thrombozytenzahl $\leq 100.000/\text{mm}^3$ • arterielle Hypoxämie: $p_a\text{O}_2 \leq 10\text{ kPa}$ ($\leq 75\text{ mmHg}$) unter Raumluft oder ein $p_a\text{O}_2/\text{F}_i\text{O}_2$- Verhältnis von $\leq 33\text{ kPa}$ ($\leq 250\text{ mmHg}$) unter Sauerstoffapplikation • renale Dysfunktion: Diurese $\leq 0,5\text{ ml/kg/h}$ für mindestens 2 h trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder Anstieg des Serumkreatinins > 2-fach oberhalb des lokal üblichen Referenzbereichs
Sepsis	Kriterium 1 und 2
Schwere Sepsis	Kriterium 1, 2 und 3
Septischer Schock	Kriterium 1 und 2, sowie systolischer arterieller Blutdruck trotz adäquater Volumengabe für mind. 1 Stunde $\leq 90\text{ mmHg}$ bzw. mittlerer arterieller Blutdruck $\leq 65\text{ mmHg}$ oder Vasopressoreinsatz, um den systolischen arteriellen Blutdruck $\geq 90\text{ mmHg}$ oder den arteriellen Mitteldruck $\geq 65\text{ mmHg}$ zu halten

Tabelle 1: Diagnosekriterien

Dargestellt sind die Diagnosekriterien zur Definition einer Sepsis, schweren Sepsis und des septischen Schocks entsprechend der 1. Revision der S-2k Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI) 2010.

1.1.6 Therapie

Die Therapie des ANV besteht aus der Behandlung der zum ANV führenden Grunderkrankung und einer symptomatischen Therapie.

Im Falle des Sepsis-induzierten ANV ist die Aufrechterhaltung eines entsprechenden arteriellen Mitteldrucks gegebenenfalls unter Einsatz von Vasopressoren von entscheidender Bedeutung und eine Voraussetzung für die Wiederherstellung einer adäquaten glomerulären Filtrationsrate. In der kausalen Therapie der Sepsis bzw. des septischen Schocks sollte die frühzeitige und vollständige Sanierung der Infektionsquelle angestrebt werden (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 1c). Der frühzeitige Beginn (innerhalb einer Stunde nach der Diagnosestellung) einer antimikrobiellen Therapie nach der Abnahme von Blutkulturen ist ebenfalls ratsam (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 1c, Hagel und Brunkhorst 2011).

Zu den zentralen symptomatischen Therapieansätzen in der Behandlung des Sepsis-induzierten ANV zählen folgende evidenzbasierte Maßnahmen (Reinhart et al. 2010, Benad 2011, Keller und Geberth 2007):

- Maßnahmen zur hämodynamischen Stabilisierung: Korrektur eines Volumenmangels mit Flüssigkeitssubstitution (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 1c): Unter Beachtung der kardialen Pumpfunktion des Patienten wird empfohlen, einen Flüssigkeitsmangel mit kristalloider Infusionslösung auszugleichen (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 1b). Um den Zielwert einer zentralvenösen Sauerstoffsättigung von über 70 Prozent zu erreichen, wird darüber hinaus die Gabe von Dobutamin und bei einem Hämatokrit von unter 30 Prozent die Gabe von Erythrozytenkonzentrat empfohlen (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 1b).
- Einsatz von Diuretika: Die diuresesteigernde Wirkung von Diuretika betrifft nur Flüssigkeit, die zuvor glomerulär filtriert wurde. Da Diuretika die glomeruläre Filtration nicht beeinflussen können, ist ihr Einsatz bei ausbleibendem Diureseanstieg nicht indiziert. Eine 2002 veröffentlichte Kohortenstudie zeigt ein erhöhtes Mortalitätsrisiko unter Einsatz von Diuretika beim kritisch kranken Patienten mit ANV (Mehta et al. 2002).

Den Leitlinien der DSG folgend kann die Gabe von Diuretika nur erwogen werden, „um die Reaktion der Niere nach adäquater Volumentherapie zu

testen, oder um bei erhaltener Diurese das Volumenmanagement zu erleichtern“ (Reinhart et al. 2010, S. 27: Evidenzgrad 5).

Weitere Bestandteile der konservativen Therapie des ANV sind die Bilanzierung des Flüssigkeitsdefizits, die Sicherstellung einer adäquaten Kalorienzufuhr, die Behandlung einer eventuellen Hypotonie, die Dosisreduktion nephrotoxischer Substanzen (z.B. Kontrastmittel) und gegebenenfalls die Korrektur einer Anämie des Patienten. Zugehörig sind ebenso engmaschige Kontrollen des Blutbildes, des Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalts, der Retentionswerte und der Infektparameter.

Im Rahmen der Therapie des postrenalen ANV steht die Beseitigung der Obstruktion in den ableitenden Harnwegen im Vordergrund.

Die Beeinträchtigung der Nierenfunktion oder ihr kompletter Funktionsverlust kann den Einsatz eines Nierenersatzverfahrens notwendig machen. Es existieren jedoch keine konkreten Grenzwerte der Nierenretentionsparameter, die den Einsatz einer Nierenersatztherapie indizieren.

Folgende Befunde stellen eine Indikation zur Akutdialyse bei einem bestehenden ANV dar (Koziolek et al. 2012, Kielstein 2006):

- therapierefraktäre Hyperkaliämie
- Urämiesymptomatik
- Enzephalopathie
- therapierefraktäre Hypervolämie
- metabolische Azidose
- therapierefraktärer Hypertonus
- dialysable Intoxikation

Grundsätzlich existieren kontinuierliche und intermittierende Nierenersatzverfahren, die beim Einsatz im Rahmen eines Sepsis-induzierten ANV als gleichwertig anzusehen sind (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 2a). Bei Patienten im septischen Schock, die ein oligurisches ANV entwickeln, wird die frühzeitige Einleitung eines Nierenersatzverfahrens empfohlen (Reinhart et al. 2010, Evidenzgrad 5).

Etwa zwei Drittel der kritisch kranken Patienten mit ANV benötigen im Verlauf eine Nierenersatztherapie (Uchino et al. 2005, Neveu et al. 1996).

1.1.7 Prognose

Trotz des medizinischen Fortschritts in der Intensivmedizin hat sich die Mortalität des ANV nicht vermindert (Kielstein 2006, Keller und Geberth 2007). Die Krankenhaussterblichkeit des ANV liegt bei ca. 60 Prozent (Uchino et al. 2005). Generell bildet das Vorhandensein eines ANV einen unabhängigen negativen prognostischen Faktor in Bezug auf die Mortalität (Levy et al. 1996).

Prädiktive Faktoren, die die Letalität des ANV negativ beeinflussen, sind ein höheres Lebensalter, ein vorher bereits veränderter Gesundheitszustand, ein vorangegangener Krankenhausaufenthalt, ein spätes Auftreten des ANV im Krankheitsverlauf, eine Sepsis oder Oligurie und die Schwere der Erkrankung (Brivet et al. 1996). Darüber hinaus stellt sich die Prognose des anurischen ANV wesentlich schlechter dar als die des oligurischen ANV (Keller und Geberth 2007).

65 bis 86 Prozent der kritisch kranken Patienten und damit die Mehrheit derer, die ein ANV entwickeln und überleben, benötigen bei der Entlassung aus dem Krankenhaus keine dauerhafte Nierenersatztherapie (Uchino et al. 2005). Nur etwa 14 Prozent der Patienten sind dauerhaft dialysepflichtig (Uchino et al. 2005).

1.1.8 Diagnostische Marker

Im klinischen Alltag werden in erster Linie der Serumkreatininwert und die glomeruläre Filtrationsrate sowie die Diurese des Patienten zur Diagnosestellung eines ANV herangezogen.

Ein früher diagnostischer Marker vergleichbar mit dem Troponin I als kardioselektiver Marker in der Diagnostik des akuten Myokardinfarkts fehlt beim ANV bisher. Für das klinische Ergebnis des Patienten ist aber vor allem eine frühe Diagnose entscheidend. Bei einem Anstieg des Serumkreatininwertes ist die glomeruläre Filtrationsrate der Niere schon zu über 50 Prozent gesunken (sogenannter „Kreatininblinder Bereich“), sodass er als diagnostischer Parameter eines ANV unzureichend ist.

Eine Anzahl vielversprechender Biomarker zum Nachweis tubulärer Nierenschädigungen (NGAL, Cystatin C, KIM-1, L-FABP) existiert bereits. Fortschritte konnten im Bereich der endogenen Marker Cystatin-C und Neutrophil-Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) erzielt werden, die sich im Klinikalltag allerdings noch nicht etabliert haben. Cystatin C wird durch glomeruläre Filtration aus dem Körper eliminiert und in

den renalen Tubuli vollständig rückresorbiert. Bei einer gestörten Tubulifunktion im Rahmen eines ANV wird es vermindert reabsorbiert, sodass die Cystain C-Konzentration im Urin eine Aussage über die tubuläre Dysfunktion zulässt. NGAL aus der Familie der Lipocaline ist ein Protein, das in zahlreichen Epithelien des menschlichen Körpers im Falle eines Epithelschadens exprimiert wird, so auch in der Niere. Bei einer Nierenschädigung hat sich das NGAL-Gen als eines der am schnellsten aktivierten Gene gezeigt (Mori und Nakao 2007). Eine prospektive Studie mit Kindern, die einen kardiopulmonalen Bypass bekamen und im Verlauf ein ANV entwickelten, konnte zeigen, dass der NGAL-Wert im Blut sowie im Urin der Patienten schon zwei Stunden nach dem Eingriff signifikant erhöht war (Mishra et al. 2005). Im Gegensatz dazu konnte das ANV anhand des Serumkreatininwertes erst nach ein bis drei Tagen diagnostiziert werden (Mishra et al. 2005).

1.2 Immunologie des ANV – Stand der Forschung

Die immunologischen Vorgänge im Rahmen eines Sepsis-induzierten ANV sind bisher nur unvollständig verstanden. Studien weisen darauf hin, dass diesen Vorgängen in der Pathogenese der Sepsis bzw. des septischen Schocks sowie bei der Entwicklung der Organkomplikation eines ANV im Verlauf der Erkrankung eine entscheidende Rolle zukommt. Hinweisend darauf ist vor allem, dass sich die immunologischen Parameter von Patienten unterscheiden, abhängig davon, ob sie im Verlauf ihrer Erkrankung eine schwere Sepsis entwickeln oder nicht (Hotchkiss et al. 2002).

In der neueren Literatur wird die Dynamik und Variabilität der Immunantwort des septischen Patienten betont, die von der Virulenz des Erregers, Komorbiditäten, genetischen Polymorphismen und dem Ausmaß des inflammatorischen Geschehens beeinflusst ist (Singh und Evans 2006). Im Tierexperiment konnten besonders in der Frühphase des Sepsis-induzierten ANV signifikant erhöhte Plasmaspiegel des TNF- α und IL-6 nachgewiesen werden (Benes et al. 2011). Tierexperimentelle Ergebnisse, die eine unkontrollierte inflammatorische Immunantwort zeigen, werden aber auch kritisch bewertet, da relativ hohe Dosen des Erregers bzw. Endotoxins eingesetzt wurden und Hinweise aus tierexperimentellen Studien für das umfassende Verständnis der immunologischen Vorgänge beim Menschen nicht ausreichen (Singh und Evans 2006).

Eine Caspase-3 vermittelte Apoptose von Lymphozyten verursacht eine beeinträchtigte Immunfunktion entscheidend mit (Hotchkiss et al. 1999). Breite Evidenz existiert für die Beteiligung von Lymphozyten am Geschehen eines ANV. Zunächst wird eine allgemeine Nephroprotektion durch die vollständige Abwesenheit von T-Lymphozyten im Rahmen eines ischämischen Nierenschadens im Tierexperiment an Mäusen festgestellt (Friedewald und Rabb 2004, Rabb et al. 2000, Yokota et al. 2002).

Außerdem ist die Beteiligung von T-Lymphozyten am Geschehen eines durch Nephrotoxizität induzierten ANV mithilfe der Injektion von Cisplatin Gegenstand unterschiedlicher tierexperimenteller Studien. Liu et al. verzeichneten im Rahmen einer tierexperimentellen Studie bei T-Zell-defizitären-knock-out-Mäusen im Gegensatz zur Wildtyp-Kontrollgruppe, 72 Stunden nach einer Nierenschädigung durch die Injektion von Cisplatin, höhere Überlebensraten sowie einen geringeren Anstieg des Serumkreatininwertes. Auch die Übertragung von T-Lymphozyten auf T-Zell-defizitäre-knock-out-Mäuse führte zu einer Verschlechterung der Nierenschädigung und einem Anstieg des Serumkreatininwertes (Liu et al. 2006). Diese Ergebnisse sprechen ebenfalls für eine Nephroprotektion durch ein generelles T-Lymphozyten-Defizit. Weiter konnte in einer experimentellen Studie am Mausmodell gezeigt werden, dass Mäuse mit einem CD4⁺ T-Zell-Defizit, aber keinem CD8⁺ T-Zell-Defizit vor einem ischämischen Nierenschaden geschützt waren (Friedewald und Rabb 2006). In einer anderen Studie hatten Mäuse mit einem Defizit an CD4⁺ T-Lymphozyten im Gegensatz zur CD8⁺ -defizitären Gruppe und einer Wildtyp-Kontrollgruppe eine signifikant verbesserte Restitution der Nierenfunktion nach einem ischämischen ANV (Burne et al. 2001).

Um die modulierende Rolle der CD4⁺ T-Lymphozyten in der zellulären Interaktion im Rahmen eines ANV weiter zu definieren, wurden CD4⁺ T-Lymphozyten-knock-out-Mäusen CD4⁺ T-Lymphozyten aus Mäusen transferiert, die entweder ein Defizit an CD28 (Gruppe 1) oder Interferon- γ (Gruppe 2) hatten (Burne et al. 2001). Mit dem Defizit an CD28 auf der Oberfläche der CD4⁺ T-Lymphozyten sollte überprüft werden, welche Rolle der Expression von akzessorischen Molekülen im Geschehen des durch T-Lymphozyten vermittelten Nierenschadens zukommt. Das Defizit an Interferon- γ diente der Unterscheidung der ausgelösten Immunantwort in eine möglicherweise Th1- oder Th2-dominierte Antwort (Burne et al. 2001).

Im Ergebnis konnte gezeigt werden, dass weder der Transfer von CD4⁺ T-Lymphozyten der Gruppe 1 noch der Gruppe 2 auf CD4⁺ T-Lymphozyten-knock-out-Mäuse den Phänotyp mit einem Nierenschaden wiederherstellen konnte (Burne et al. 2001). Dies lässt darauf schließen, dass die Th1-Polarisation der CD4⁺ T-Lymphozyten in der Vermittlung eines ischämischen Nierenschadens von entscheidender Bedeutung ist und Interferon- γ sowie das akzessorische Molekül CD28 auf der Oberfläche der CD4⁺ T-Lymphozyten wichtige Modulatoren in diesem Geschehen sind (Burne et al. 2001).

Die Ergebnisse tierexperimenteller Studien zur Rolle der T-Lymphozyten ergeben allerdings kein einheitliches Bild. Zudem werden ihnen auch nephroprotektive Eigenschaften zugeschrieben. Von bedeutendem Interesse ist daher die Identifikation entscheidender Subtypen der T-Lymphozyten, um die Ergebnisse eindeutig einordnen zu können.

Im Rahmen einer 2010 veröffentlichten Studie zum Cisplatin-induzierten ANV wurden bei einem Subtyp der T-Lymphozyten, den CD4⁺/CD25⁺, sogenannte regulatorische T-Lymphozyten, nephroprotektive Eigenschaften festgestellt (Lee et al. 2010): Knock-out-Mäusen mit Mangel an reifen T-Lymphozyten wurde der CD4⁺/CD25⁺ -Subtyp übertragen und es konnten im Vergleich mit der Gruppe, der dieser Subtyp nicht übertragen wurde, höhere Überlebensraten sowie niedrigere Serumkreatinin- und Harnstoffwerte nach der Injektion von Cisplatin festgestellt werden. Wurde Wildtyp-Mäusen der CD4⁺/CD25⁺ -Subtyp übertragen, konnten ebenfalls niedrigere Serumkreatinin- und Harnstoffwerte sowie ein längeres Überleben nach der Cisplatin-Injektion erzielt werden (Lee et al. 2010). Analog dazu verursachte die Depletion von CD4⁺/CD25⁺ T-Lymphozyten in Wildtyp-Mäusen eine Exazerbation der Nierenschädigung nach der Gabe von Cisplatin (Lee et al. 2010).

Bajwa et al. kommen zu dem Ergebnis, dass beim ischämischen ANV in einer frühen Phase der Entzündungsreaktion zunächst eine Akkumulation von neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, CD4⁺ T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen stattfindet und regulatorische T-Lymphozyten die Niere im Rahmen einer anti-inflammatorischen Zellflut in einer späteren Phase infiltrieren, die die Wiederherstellung der Nierenfunktion initiiert (Bajwa et al. 2009).

Es wird davon ausgegangen, dass das Zytokin IL-2C diese Expansion regulatorischer T-Lymphozyten auslöst. Außerdem können die regulatorischen T-Lymphozyten eine akute Nierenschädigung verringern (Kim et al. 2013).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass regulatorische T-Lymphozyten einen ischämischen Nierenschaden über das anti-inflammatorische Zytokin IL-10 modulieren und durch ihre allgemein suppressive Wirkung auf das angeborene Immunsystem, eine akute Nierenschädigung vermindern (Kinsey et al. 2009).

In einer 2012 veröffentlichten Studie wurde Mäusen der Stoff N-Dimethylsphingosin (DMS) verabreicht und dadurch eine höhere Infiltrationsrate der Niere mit regulatorischen T-Lymphozyten im Rahmen eines ischämischen ANV verzeichnet (Lai et al. 2012). Hierbei konnte ebenfalls eine Nephroprotektion durch diesen Zelltyp festgestellt werden, da bei Mäusen, die mit DMS stimuliert wurden, die Serumkreatinin- und Harnstoffwerte im Vergleich zu der Kontrollgruppe deutlich niedriger ausfielen (Lai et al. 2012).

Regulatorische T-Lymphozyten spielen demnach eine entscheidende Rolle bei der Modulation der immunologischen Prozesse im Rahmen eines ANV und ihre Rekrutierung bietet einen möglichen Ansatz für neue Therapiestrategien.

Auch wenn die Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV der des Ischämie/Reperfusion-induzierten ANV nicht völlig gleicht, sind die Ergebnisse der angeführten Studien zu den immunologischen Vorgängen des ischämischen ANV durchaus auf das Sepsis-induzierte ANV übertragbar. Neuste Daten lassen Verbindungen in diesem Bereich zu („Pathogenesis of septic acute kidney injury is thought to be different from that of ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. Our data showed a link between apoptosis, immune suppression, and the development of acute kidney injury during sepsis [...]“, Lee et al. 2012, S. 2997).

Insgesamt stellen sich die tierexperimentellen Ergebnisse zur Rolle der T-Lymphozyten im Geschehen des ANV allerdings bis heute nicht grundlegend einheitlich dar und die Rolle der CD4⁺ T-Lymphozyten sowie entscheidender Subtypen ist noch nicht ausreichend geklärt.

1.3 Zielsetzung

Die frühe Diagnosestellung eines ANV ist für das klinische Ergebnis des Patienten von entscheidender Bedeutung. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, durch die Evaluierung des zellulären ATP-Gehalts von CD4⁺ T-Lymphozyten mittels eines Immunfunktionsassays (ImmuKnow®) zu überprüfen, ob dieser Test einen frühen diagnostischen Marker des ANV darstellen kann. Außerdem soll die Rolle der

CD4⁺ T-Lymphozyten im immunologischen Prozess des Sepsis-induzierten ANV genauer analysiert werden. So könnten neue Möglichkeiten der Vorbeugung und Behandlung des ANV eröffnet werden.

2 Material und Methoden

2.1 Ethikvotum und Datenschutzvotum

Die vorliegende Untersuchung wurde der Ethikkommission der UMG vorgelegt und genehmigt (EA 14/5/12). Ein positives Datenschutzvotum wurde ebenfalls erteilt.

2.2 Aufklärung und Einwilligung der Patienten

Nach einer Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien wurden die Patienten über die Teilnahme an der Untersuchung durch den von der Ethikkommission eingesetzten Prüfarzt aufgeklärt. Das Aufklärungsgespräch wurde unter zu Hilfenahme eines standardisierten Aufklärungsbogens geführt. Die Einwilligung der Patienten erfolgte ebenfalls mittels eines standardisierten Einwilligungsbogens.

2.3 Studiendesign

Die vorliegende Untersuchung wurde als prospektive Observationsstudie durchgeführt.

Zu drei Zeitpunkten wurde die zelluläre ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten gemessen und innerhalb des Patientenkollektivs im Zeitverlauf verglichen. Dies erfolgte mittels des von der Firma CYLEX® entwickelten qualitativen Funktionstests ImmuKnow®.

Sofern die Bereitschaft zur Teilnahme an der Untersuchung schriftlich erklärt wurde, wurden jeweils 10 ml Vollblut zu folgenden Zeitpunkten entnommen:

Zeitpunkt 1: 24 Stunden

(Messung erfolgt 0 bis 24 Stunden nach stationärer Aufnahme)

Zeitpunkt 2: 48 Stunden

(Messung erfolgt 24 Stunden nach Zeitpunkt 1)

Zeitpunkt 3: 96 Stunden

(Messung erfolgt 48 Stunden nach Zeitpunkt 2)

Die Datenerhebung und Laboranalytik erfolgte im Rahmen von 5 Studienvisiten. Der folgende Prüfplan zeigt alle erhobenen Daten eines Studienpatienten (Tabelle 2).

Studienvisite	1	2	3	4	5
Zeitpunkt	0 (stationäre Aufnahme)	48 Stunden	96 Stunden	Entlassung von ICU	Entlassung aus Klinik
Demographische Daten	X				
Aktuelle Anamnese	X				
Vorerkrankungen	X				
Vormedikation	X				
Klinische Untersuchung	X				
SAPS II Score	X	X	X	*	
SOFA Score	X	X	X		
ICU-Mortalität				X	
28 Tage-Mortalität					X
Klinikmortalität					X
AKIN-Stadium				X	
eGRF	X	X	X		X
Routinelabor ¹	X	X	X		
Fokussuche	X				
Kulturen (BK, UK, TK)	X				
Plasmaprobe	X	X	X		
Zytokine ²	X	X	X		
ImmuKnow [®]	X	X	X		
Urin NGAL	X	X	X		

Tabelle 2: Prüfplan

Dargestellt ist der Prüfplan der vorliegenden Untersuchung. Den 5 Studienvisiten sind die zu erhebenden Daten und die durchzuführende Laboranalytik zugeordnet.

*

Schlechtester Wert während ICU Aufenthalt

1 Hämostaseologie: P-TPZ (Quick), P-aPTT, P-Fibrinogen; Hämatologie: B-Hämoglobin, B-Hämatokrit; B-Erythrozyten, B-MCV, B-MCH, B-MCHC, B-Thrombozyten, B-Leukozyten; Mikroskopisches Blutbild: B-Stabkernige, B-Segmentkernige, B-Lymphozyten, B-Monozyten, B-Basophile, B-Eosinophile; Klinische Chemie: P-Calcium, P-Kreatinin, eGFR, P-Harnstoff-N, P-Protein, P-Bilirubin ges., P-AST, P-ALT, P-AP, P-GGT, P-LDH, P-CK, P-CRP, P-Procalcitonin

2 IL-1 β , IL-6, TNF- α

2.4 Patientenkollektiv

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden 33 Patienten der Intensivtherapiestation und der Intermediate Care-Station der Klinik für Nephrologie und Rheumatologie im Zentrum für Innere Medizin am Universitätsklinikum der Georg-August-Universität Göttingen untersucht. Alle Patienten hatten einen septischen Schock erlitten.

Die Auswahl der Patienten erfolgte anhand folgender Kriterien:

2.4.1 Klinische Einschlusskriterien

- Septischer Schock
 - nicht vorbehandelt
 - extern zugewiesen (von ambulant) oder
 - intern zugewiesen, aber Krankenhausaufenthalt < 72 Stunden

2.4.2 Klinische Ausschlusskriterien

- Alter < 18 Jahre oder > 90 Jahre
- Interne Zuweisung (Vorbehandlung > 72 Stunden)
- Immunsuppressive Vortherapie (inkl. Chemotherapie und Behandlung mit Steroiden)
- T-Lymphozyten-depletierende Antikörper-Vortherapie
- Stammzelltransplantation
- Leukopenie < 1Tsd/ μ l

2.4.3 Diagnosekriterien

Um die Einschlussdiagnose „septischer Schock“ zu stellen, galt es definitionsgemäß, für mindestens 60 Minuten trotz adäquatem Volumenersatz und dem Ausschluss anderer Ursachen folgende Kriterien zu erfüllen (Hagel und Brunkhorst 2011):

- Nachweis der Infektion
- systolischer arterieller Blutdruck ≤ 90 mmHg bzw. mittlerer Blutdruck < 65 mmHg oder notwendiger Vasopressoreneinsatz, um $P_{\text{sys}} > 90$ bzw. $P_{\text{mittel}} > 65$ zu halten
- mind. zwei Kriterien des Systemisch Inflammatorischen Response-Syndroms (SIRS):

- Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$)
- Tachykardie: Herzfrequenz $\geq 90/\text{min}$
- Tachypnoe (Frequenz $\geq 20/\text{min}$) oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 32\text{mmHg}$)
- Leukozytose ($\geq 12000/\text{mm}^3$) oder Leukopenie ($\leq 4000/\text{mm}^3$)

2.4.4 Zeitraum der Datenerhebung

Die Datenerhebung am beschriebenen Patientenkollektiv erfolgte vom 12. Juli 2011 bis 12. April 2013 über einen Zeitraum von 21 Monaten im Universitätsklinikum Göttingen.

2.5 Klinische Datenerhebung

Nach einer Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien sowie Aufklärung des Patienten durch den Prüfarzt erfolgte die klinische Datenerhebung im Rahmen von 5 Studienvisiten. Die ersten drei Visiten wurden zum Zeitpunkt 1 (0-24h nach Aufnahme), 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) und 3 (ca. 96 Stunden nach Aufnahme) durchgeführt. Eine vierte Visite erfolgte zum Zeitpunkt der Entlassung des Patienten von der Intensivtherapie- bzw. Intermediate Care-Station. Eine letzte fünfte Visite wurde zum Zeitpunkt der Entlassung des Patienten aus dem Krankenhaus durchgeführt.

Mit Hilfe von standardisierten Visitenbögen wurden folgende Größen eines Patienten erfasst:

- demographischen Stammdaten (Alter, Größe, Geschlecht, Gewicht)
- ausführliche aktuelle Anamnese (inklusive Vorerkrankungen und Vormedikation)
- Routinelaborwerte (siehe Tabelle 2)
- gegebenenfalls mikrobiologische und apparative Befunde
- Schweregrades der Sepsis (SAPS II Score, SOFA-Score, ICU-, Klinik- und 28-Tagemortalität)
- gegebenenfalls Erfassung des Schweregrads einer renalen Funktionseinschränkung (AKIN-Klassifikation)

Zur Bestimmung des AKIN-Stadiums wurde der schlechteste Serumkreatininwert und/oder die niedrigste Diurese des Patienten während des Aufenthalts auf der Intensivtherapie- bzw. Intermediate Care-Station ausgewertet. Über die gesamte Dauer des Aufenthalts auf der Intensivtherapie- bzw. Intermediate Care-Station

wurde in einem separaten Verlaufsbogen täglich der SAPS- und der SOFA-Score des Patienten erfasst. Zur Beurteilung des renalen Ergebnisses des Patienten wurde der eGFR-Wert zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus (0 bis 72 Stunden vor Entlassung) evaluiert.

2.5.1 Datenschutz

Die erhobenen Daten wurden in gesonderten Akten aufbewahrt. Die Patientennamen wurden zur Gewährleistung eines sichereren Datenschutzes durch Pseudonyme ersetzt. Die Identität eines Patienten ist durch die Zuteilung von Initialen für Dritte nicht erkennbar.

2.5 Material und Geräte

Tabelle 3 zeigt alle Materialien und Geräte, die für die experimentellen Versuche eingesetzt wurden.

Bezeichnung	Firma
Assay Platte und Abdeckung (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Probenverdünner (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Stimulans Phytohemagglutinin (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Dynabeads® CD4 (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Waschpuffer (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Lysereagens Luciferin/Luciferase (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Kalibrator Panel (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Lumineszenzreagens (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA

Messplatte (ImmuKnow®)	CYLEX Inc, Columbia USA
Mikroplatten Luminometer	Turner BioSystems, USA
Standardmikrotiterplatte	Turner BioSystems, USA
Computer	Siemens, München
37 °C / 5 % CO ₂ befeuchteter Inkubator	Heraeus, Hanau
Cylex Magnet Tray	CYLEX Inc, Columbia USA
ImmuKnow® Data Analysis Calculator™	CYLEX Inc, Columbia USA
Vakuumpumpe mit 8-Kanal Absaugaufsatz	Drumond Scientific, USA
Mikroplatten-Mischer	Siemens, München
Pipetten (Volumenumfang 25–1000 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen	Sarstedt, Nümbrecht
Mehrkanalpipette (Volumenumfang 50–200 µl)	Eppendorf, Hamburg
Multipipette	Eppendorf, Hamburg
11 x 40 mm Reagenzröhrchen	Eppendorf, Hamburg
Polypropylenröhrchen 4 ml	Eppendorf, Hamburg
Flüssigkeitsreservoirs	Roth, Karlsruhe
Natrium-Heparin Monovetten® 2,7 ml	Sarstedt, Nümbrecht

Tabelle 3: Material und Geräte

Dargestellt ist die Gesamtliste aller für die Durchführung der Untersuchung benötigten Materialien und Geräte.

2.6 Funktionsprinzip der Methode: Biolumineszenz

ImmuKnow® ist ein von der Firma CYLEX® (CYLEX Inc, D.C. USA) entwickelter qualitativer Funktionstest, der die zelluläre Immunantwort durch die Messung der ATP-Konzentration vor und nach der Stimulation der CD4⁺ T-Helferzellen erfasst. Die

Analytik wird unter Verwendung von Luciferin/Luciferase und einem Luminometer (Turner BioSystems, CA USA) durchgeführt.

Die Messung erfolgt aus Heparin-antikoaguliertem Vollblut, welches in einer separaten 2,7 ml Monovette abgenommen wird.

Dem Vollblut wird das universelle Zellstimulans Phytohemagglutinin (PHA) hinzugegeben und dadurch die Zellteilung in CD4⁺ T-Lymphozyten angeregt. Ein erster zentraler Bestandteil der Zellteilung ist die intrazelluläre ATP-Synthese, die dadurch angeregt wird.

Dieser Ansatz und ein weiterer Ansatz - ohne die Zugabe des Zellstimulans PHA – werden 15 bis 18 Stunden in einem mit 5 Prozent CO₂ befeuchteten Inkubator bei 37°C inkubiert. Nach der Inkubation werden mit Magnetpartikeln beschichtete monoklonale Anti-CD4-Antikörper zu den Ansätzen gegeben und dadurch die CD4⁺ T-Zellen selektiert. Dieser Komplex wird durch einen Magneten an der Wand des Reagiergefäßes gehalten und es folgen drei Waschgänge mit einem Waschpuffer. Anschließend werden die selektierten Zellen durch Zugabe eines Lyse-Reagens lysiert und das intrazelluläre ATP freigesetzt. Durch die Zugabe eines Lumineszenzreagens kann die Lichtintensität mit einem Luminometer (Emissionsmaximum 562 nm) gemessen werden. Diese Lichtintensität verhält sich proportional zur ATP-Konzentration der Ansätze. Die ATP-Konzentration (ng/ml) kann anhand einer mitgeführten Eichkurve, in der Lichtemissionswerte bekannten ATP-Konzentrationen zugeordnet sind, errechnet werden.

Die Immunzellfunktion wird anhand der ATP-Konzentrationen abgeleitet.

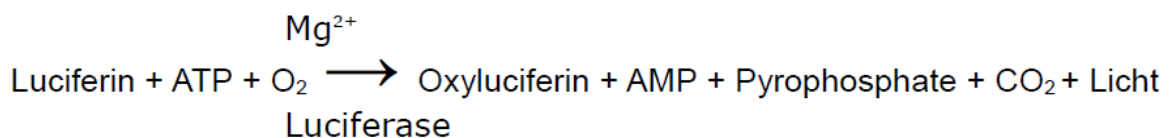


Abbildung 3: Reaktionsgleichung (modifiziert nach Britz et al. 2002, S. 333)

Dargestellt ist Reaktionsgleichung der zentralen chemischen Reaktion des ImmuKnow®.

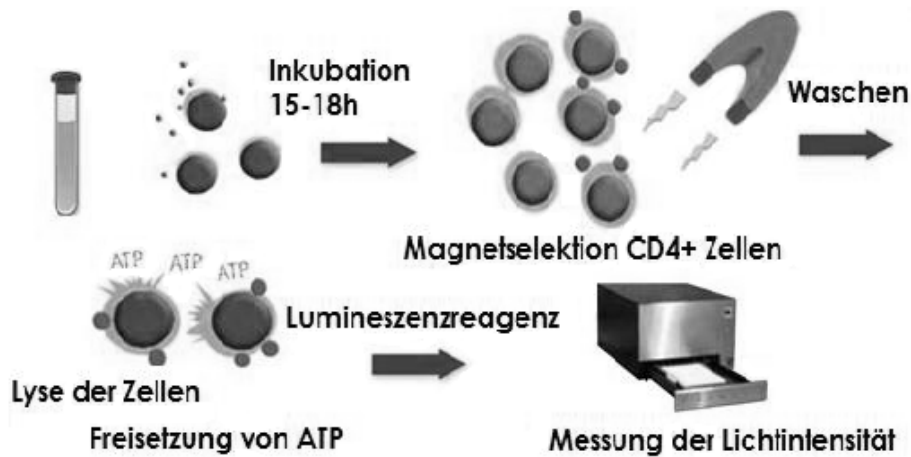


Abbildung 4: Testprinzip Biolumineszenz (modifiziert nach Britz et al. 2002, S. 332)

Dargestellt ist das der vorliegenden Untersuchung zugrunde liegende bioluminometrische Testprinzip mit den einzelnen Testabschnitten des ImmuKnow®.

2.7 Technische Durchführung

Die zelluläre ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten wurde zu drei Zeitpunkten mittels des qualitativen Funktionstests ImmuKnow® der Firma CYLEX® evaluiert. Der Test wurde entsprechend dem folgenden Ablauf durchgeführt:

2.7.1 Assay Teil eins: Zellstimulation

Am Computer wird zunächst mit Hilfe des ImmuKnow® Data Analysis Calculator™ ein Assay Worksheet generiert, das die Reihenfolge der Kontrollprobe und Patientenprobe/n auf der Assay-Platte festlegt.

Alle benötigten Reagenzien werden vor Gebrauch ohne Hilfsmittel auf Raumtemperatur (12 bis 28 °C) gebracht. Jede Blutprobe (Kontrolle bzw. Patient) wird für eine homogene Verteilung der Zellen vorsichtig durch mehrmaliges über Kopf Schwenken gemischt. Um eine 1:4 Verdünnung jeder Blutprobe herzustellen, wird 250 µl Blut mit 750 µl Probenverdünner in ein 4,5 ml Polypropylenröhrchen pipettiert und wieder durch vorsichtiges mehrmaliges über Kopf Schwenken gemischt.

Die Assay Platte wird gemäß dem erstellten Assay Worksheet mit einem 8-Well-Streifen für die Kontrolle und je einem 8-Well-Streifen für jede Patientenprobe bestückt.

Mit einer Multipipette wird 25 µl Probenverdünner in die ersten 4 Wells (A-D) jedes Streifen pipettiert. Diese Wells werden gemäß dem Assay Worksheet als n (= nichtstimulierte Probe) bezeichnet. Mit einer Multipipette wird 25 µl des Stimulans Phytohemagglutinin in die folgenden 4 Wells (E-H) jedes Streifens pipettiert. Diese

Wells werden gemäß dem Assay Worksheet als s (= stimulierte Probe) bezeichnet. Mit einer Single Pipette wird 100 µl der verdünnten Kontrollprobe in den ersten Streifen eines jeden Wells (A-H) pipettiert. Dem Assay Worksheet folgend werden 100 µl der verdünnten Patientenprobe mit einer Single Pipette in jedes weitere Well (A-H) der den Patientenproben zugeordneten folgenden Streifen pipettiert. Die Assay Platte wird mit einem Deckel verschlossen und 30 Sekunden in drei Mischeinheiten auf dem Mikroplattenmischer gemischt. Nach einer Desinfektion der Assay Platte wird diese 15 bis 18 Stunden bei 37 °C in einem mit 5 Prozent CO₂ befeuchteten Inkubator inkubiert.

2.7.2 Assay Teil zwei: CD4⁺-Zellselektion und ATP-Freisetzung

Alle benötigten Reagenzien werden ohne Hilfsmittel auf Raumtemperatur gebracht. Die Assay Platte wird aus dem Inkubator genommen und auf dem Plattenmischer drei Minuten gemischt. Die Dynabeads® CD4 werden vorsichtig gemischt und 50 µl mit einer Multipipette in jedes Well pipettiert. Die Assay Platte wird mit dem Deckel verschlossen und auf dem Plattenmischer 20 Sekunden gemischt. Es folgt eine Inkubationsphase von 15 Minuten bei Raumtemperatur (12 bis 28 °C). Nochmals wird die Assay Platte für 20 Sekunden auf dem Plattenmischer gemischt und weitere 15 Minuten inkubiert. Um eine Resuspendierung der Magnetpartikel zu erreichen, wird die Assay-Platte wiederum für 15 bis 30 Sekunden auf dem Plattenmischer gemischt.

Die Streifen werden vorsichtig vom Assay Träger auf den Magnet Tray umgesetzt. Damit sich die mittels Magnetpartikeln gebundenen CD4⁺-Zellen durch den Magneten an der Wandung des Wells anlagern können, wird ein bis zwei Minuten gewartet. Auf diese Weise werden die CD4⁺-Zellen aus den Blutproben isoliert.

Das Blut wird über einen an eine Vakuumpumpe angeschlossenen 8-Kanal-Kamm abgesaugt. In drei Waschschritten werden ungebundene Zellen und interferierende Substanzen eliminiert:

Waschschritt eins: 200 µl Waschpuffer wird mit einer Mehrkanalpipette in jedes Well pipettiert und nach einer einminütigen Wartezeit abgesaugt.

Waschschritt zwei: Es wird 200 µl Waschpuffer mit einer Mehrkanalpipette in jedes Well pipettiert. Anschließend wird geprüft, ob Blutpartikel oberhalb des Puffers an der Wandung der Wells haften. Ist dies der Fall, werden diese mit einer Pipettenspitze entfernt. Der Puffer wird anschließend abgesaugt.

Waschschritt drei: 200 µl Waschpuffer werden mit einer Mehrkanalpipette in jedes

Well pipettiert. Der Träger mit den Streifen wird vom Magnet Tray abgenommen und auf dem Plattenmischer platziert. Es folgt ein einminütiger Mischvorgang. Der Träger wird zurück auf den Magnet Tray gesetzt und eine Minute gewartet. Anschließend wird der Puffer abgesaugt.

200 µl Lysereagens wird mit einer Mehrkanalpipette in jedes Well pipettiert.

Der Träger mit den Streifen wird vom Magnet Tray abgenommen und auf dem Plattenmischer platziert. Es folgt ein einminütiger Mischvorgang. Der Träger wird anschließend zurück auf den Magnet Tray gesetzt und ein bis zwei Minuten gewartet.

2.7.3 Assay Teil drei: ATP-Messung

Die Messplatte wird entsprechend dem erstellten Assay Worksheet bestückt. Ein Streifen für die Kontrollprobe, ein Streifen für jede Patientenprobe und zwei Streifen für die Kalibratoren werden auf der Messplatte platziert.

Mit einer Mehrkanalpipette werden 50 µl der Kontrollprobe und jeder angesetzten Patientenprobe aus den Wells vom Magnet Tray in die korrespondierenden Wells auf den Streifen der Messplatte pipettiert. Jeweils 50 µl der 5 Kalibratoren (ATP-Konzentrationen: 0, 1, 10, 100 und 1000 ng/ml) werden in die Wells der entsprechenden Streifen auf der Messplatte pipettiert.

150 µl Lumineszenzreagens wird mit einer Mehrkanalpipette in jedes Well aller Streifen der Messplatte pipettiert. Die Assay Platte wird 30 Sekunden auf dem Plattenmischer gemischt.

Innerhalb von drei bis maximal 10 Minuten nach der Zugabe des Lumineszenzreagens werden die Proben auf der Messplatte am Mikroplatten Luminometer mit einem Emissionsmaximum von 562 nm gemessen.

Am Luminometer werden für jedes Well sogenannte „Relative Light Units“ bestimmt. Daraus werden mit dem ImmuKnow® Data Analysis Calculator™ die ATP-Konzentrationen der Kontroll- und Patientenproben am Computer berechnet.

2.8 Auswertung

2.8.1 Kriterien der Qualitätskontrolle

Die ATP-Resultate für alle Mehrfachmessungen, der Mittelwert aller Mehrfachmessungen, die Standardabweichung aller Mehrfachmessungen und der Variationskoeffizient aller Mehrfachmessungen werden mittels des ImmuKnow® Data Analysis Calculator™ berechnet.

In Bezug auf die Kalibrationskurve müssen folgende Kriterien erfüllt sein:

Der kalkulierte Wert für den Kalibrator 4 (ATP-Konzentration: 100 ng/ml) muss zwischen 85 und 115 ng/ml und für den Kalibrator 5 (ATP-Konzentration: 1000 ng/ml) zwischen 900 und 1100 ng/ml betragen. Der Korrelationskoeffizient r^2 der Kalibrationskurve muss $\geq 0,97$ ergeben.

Die Kontrollprobe muss folgende Kriterien erfüllen:

Die ATP-Konzentration für die nichtstimulierte Kontrollprobe muss ≤ 60 ng/ml betragen und die ATP-Konzentration für die stimulierte Kontrollprobe muss ≥ 240 ng/ml ergeben. Der Variationskoeffizient für die stimulierte Kontrollprobe muss < 20 Prozent sein.

Die Patientenproben müssen folgende Kriterien erfüllen:

Die ATP-Konzentrationen für die nichtstimulierten Patientenproben sollten ≤ 60 ng/ml betragen. Die ATP-Konzentration der nichtstimulierten Patientenprobe muss kleiner sein als die ATP-Konzentration der stimulierten Patientenprobe. Der Korrelationskoeffizient für die stimulierten Patientenproben muss < 20 Prozent sein.

Liegt der Korrelationskoeffizient > 20 Prozent, werden die Messdaten auf sogenannte „Ausreißer“ geprüft: Es handelt sich um einen Ausreißer, wenn der Mittelwert \pm drei Standardabweichungen beträgt. Maximal zwei Ausreißer dürfen aus der Kalkulation gelöscht werden. Wird bei einem Korrelationskoeffizient > 20 Prozent kein Ausreißer für die vierfach Bestimmung identifiziert, werden potentielle Fehlerquellen bei der Durchführung der Untersuchung geprüft.

2.8.2 Befundung

Tabelle 4 zeigt die Angaben des Herstellers zur Interpretation des Testergebnisses:

ATP-Konzentration [ng/ml]	Ergebnis	Interpretation
≤ 225	Schwache Immun-Zell- Antwort	Die Immunzellen des Patienten zeigen eine schwache Reaktion auf die PHA-Stimulation.
226 - 524	Moderate Immun-Zell- Antwort	Die Immunzellen des Patienten zeigen eine moderate Reaktion auf die PHA-Stimulation.

≥ 525	Starke Immun-Zell- Antwort	Die Immunzellen des Patienten zeigen eine starke Reaktion auf die PHA-Stimulation.
-------	----------------------------------	--

Tabelle 4: Herstellerangabe

Dargestellt ist die Herstellerangabe zur Einteilung der absoluten Werte der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in drei Kategorien. Die ATP-Konzentration [ng/ml] mit einem zugeordnetem Ergebnis und einer Interpretation ist abgebildet.

Grenzen der Methode:

Die Auswertung von ATP-Konzentrationen, die kleinere Werte als der Kalibrator mit der ATP-Konzentration von 1 ng/ml oder größere Werte als der Kalibrator mit der ATP-Konzentration von 1000 ng/ml annehmen, ist mit dieser Methode nicht möglich.

2.9 Messgrößen zur Evaluation der Nierenfunktion und des physiologischen Zustandes der Patienten

2.9.1 MDRD-Formel

Die glomeruläre Filtrationsrate wurde in der vorliegenden Untersuchung als eGFR (estimated Glomerular Filtration Rate) mittels der MDRD (Modifikation of Diet in Renal Disease)-Formel evaluiert. Die MDRD-Formel wurde 1999 im Rahmen der „Modification of Diet in Renal Disease Study Group“-Studie veröffentlicht und ermöglicht im Vergleich mit der üblichen Berechnungsmethode mit Hilfe der Cockcroft-Gault-Formel eine deutlich exaktere Berechnung zur Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate (Levey et al. 1999). Levey et al. konnten zeigen, dass die übliche Methode zur Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate mit Hilfe der Cockcroft-Gault-Formel diese um ca. 16% überschätzt und unabhängige Faktoren bestehen, die mit einer niedrigeren glomerulären Filtrationsrate assoziiert sind (Levey et al. 1999). Diese unabhängigen Einflussfaktoren sind eine höhere Serumkreatininkonzentration, höheres Lebensalter, weibliches Geschlecht, nichtschwarze Ethnizität, höhere Serumharnstoffkonzentration, sowie niedrigere Serumalbuminkonzentration (Levey et al. 1999). Diese Parameter werden in der MDRD-Formel berücksichtigt.

$$\text{eGFR [ml/min/1,73m}^2\text{]} = 186 \times \text{Serumkreatinin [mg/dl]} \exp(-1,154) \times \text{Alter [Jahre]} \exp(-0,203) \times \text{Korrekturfaktor}^*$$

* 0,742 bei Frauen; 1,21 bei Patient mit schwarzer Hautfarbe

Abbildung 5: vereinfachte MDRD-Formel zur Berechnung der eGFR

Dargestellt ist die vereinfachte Form der MDRD-Formel zur Berechnung der eGFR mit den einzusetzenden Parametern des Patienten: Alter, Geschlecht, Hautfarbe und Serumkreatininkonzentration.

2.9.2 SAPS II

Der physiologische Zustand der Patienten wurde mittels eines objektivierten Scoresystems evaluiert. Der SAPS II (Simplified Acute Physiology Score) ist ein Messsystem zur Beurteilung des Schweregrads einer Erkrankung und berücksichtigt 17 Variablen. 12 physiologische Parameter, das Alter, der Aufnahmezustand (geplant chirurgisch, nicht geplant chirurgisch, medizinisch), sowie drei Grunderkrankungen (erworbenes Immundefektsyndrom [engl. „AIDS“]), metastasierende Tumore und maligne hämatologische Erkrankungen werden einbezogen (Le Gall et al. 1993). Für jede Variable wird der schlechteste Wert innerhalb eines Zeitraumes von 24 Stunden eingesetzt und summiert (siehe Abbildung 6). Es können 0 bis maximal 163 Punkte vergeben werden.

Der SAPS II wurde im Rahmen einer multizentrischen Studie 1994 erstmals veröffentlicht. Er erlaubt die Beurteilung des physiologischen Zustands des Patienten sowie eine Risikoabschätzung der Mortalität mit Hilfe einer speziellen Formel ohne die Berücksichtigung einer spezifischen Primärdiagnose (Le Gall et al. 1993). Solche Scoresysteme werden vor allem im intensivstationären Rahmen zur Kontrolle der Behandlungsergebnisse eingesetzt. Es konnte gezeigt werden, dass der SAPS II die Mortalität intensivstationärer Patienten etwas überschätzt, sich aber im Vergleich mit anderen Scoresystemen bezüglich einer Vorhersage der Mortalität als überlegen erweist (Lucena et al. 2013).

Der SAPS II wurde während des gesamten Aufenthalts des Patienten auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station evaluiert (siehe Abbildung 6). Innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Aufnahme des Patienten wurde der schlechteste Punktwert ausgewertet sowie der schlechteste maximal erreichte Punktwert

während des gesamten Aufenthaltes auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station evaluiert.

SAPS II Simplified Acute Physiology Score													
Variablen	Punkte												
	0	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13
Herzfrequenz [1/min]	70-119		40-69		120-159			≥160			<40		
Systolischer Blutdruck [mmHg]	100-199		≥200			70-99							<70
Körpertemperatur [°C]	<39			≥39									
PaO ₂ /FiO ₂ * [mmHg]							≥200		100-200		<100		
Ausfuhr Urin [l/d]	≥1,0				0,5-1,0						<0,5		
Harnstoff-Stickstoff [mg/dl]	<28						28-83			≥84			
Leukozyten [10 ⁹ /mm ³]	1,0-20			≥20								<1,0	
Kalium [mmol/l]	3,0-5,0			≥5,0 <3,0									
Natrium [mmol/l]	125-145	≥145				<125							
Bicarbonat [mmol/l]	≥20			15-20			<15						
Bilirubin [mg/dl]	<4,0				4,0-5,9				≥6,0				

* Erhebung nur im Falle einer maschinellen Beatmung

Variablen	Punkte					
	0	6	8	9	10	17
Chronische Leiden				Metastasierende Neoplasie	Hämatologische Neoplasie	AIDS*
Aufnahmestatus**	Geplant chirurgisch	Medizinisch	Nicht geplant chirurgisch			

* Wertung bei positivem HIV-Test und entsprechenden klinischen Komplikationen

** geplant chirurgisch: Operationstermin mindestens 24 Stunden vorher geplant

nicht geplant chirurgisch: Operationstermin erst in den letzten 24 Stunden geplant

medizinisch: mindestens eine Woche lang nicht operiert

nicht geplant chirurgisch: Operationstermin erst in den letzten 24 Stunden geplant

Achtung! Bei den chronischen Leiden darf nur das Leiden mit der höchsten Punktzahl berechnet werden.

Variablen	Punkte								
	0	5	7	12	13	15	16	18	26
Alter des Patienten	<40		40-59	60-69		70-74	75-79	≥80	

Punktzahl SAPS II-Score: _____

Abbildung 6: SAPS II Simplified Acute Physiologie Score (modifiziert nach Le Gall et al. 1993)

Dargestellt ist das Scoresystem des SAPS II. Den einzelnen Variablen sind Punktwerte zugeordnet, die in der Summe den SAPS II ergeben.

2.9.1 Spezialanalytik

NGAL, TNF- α und IL-6 stellen drei weitere Parameter dar, die im Rahmen eines Sepsis-induzierten ANV von Relevanz sind. Sie wurden ebenfalls zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 aus dem Patientenserum bzw. -urin evaluiert und entsprechend der Nierenfunktion ausgewertet.

2.9.1.1 NGAL

Aus dem Urin der Patienten wurde die Konzentration des NGAL [ng/ml] zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 bestimmt (siehe Tabelle 2).

Diese quantitative Bestimmung erfolgte mit Hilfe des Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassays "ARCHITECT Urine NGAL" der Firma Abbott (Abbott GmbH & Co. KG, Wiesbaden) und wurde von der Abteilung "Klinische Chemie" der UMG durchgeführt.

2.9.1.2 TNF- α und IL-6

Aus dem Patientenserum wurde außerdem die Konzentration der Zytokine TNF- α [pg/ml] und IL-6 [pg/ml] zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 evaluiert (siehe Tabelle 2). Als Routinelaborwert erfolgte die Messung im nephrologischen Speziallabor der Abteilung „Nephrologie und Rheumatologie“ der UMG.

2.9.2 Statistische Auswertung

Alle Zielvariablen wurden zwischen den zwei Patientengruppen „Patienten im septischen Schock ohne ANV“ und „Patienten im septischen Schock mit ANV“ verglichen und auf statistische Unterschiede geprüft. Die Patientengruppe der Patienten im septischen Schock mit ANV wurde entsprechend der AKIN-Klassifikation in drei Untergruppen geteilt (AKIN-Stadium 1, AKIN-Stadium 2 und AKIN-Stadium 3). Diese Untergruppen werden der Gruppe von Patienten im septischen Schock ohne ANV ebenfalls einzeln gegenübergestellt und auf statistische Unterschiede geprüft.

Eine zweite Einteilung der Patienten erfolgte entsprechend der Nierenfunktion zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus (Restitutio a. i., Defektheilung / Dialyse, Tod). Es wurde ebenfalls auf statistische Unterschiede zwischen diesen drei Patientengruppen geprüft.

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms Statistica und Microsoft Excel. Für die deskriptive Auswertung wurden abhängig vom Endpunkt

entweder Anzahl und Prozente (z.B. Geschlecht) oder Mittelwerte und Standardabweichung (z.B. Alter) angegeben.

Zur Beurteilung der statistischen Signifikanz wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet. Histogramme und Boxplots wurden zur graphischen Veranschaulichung angefertigt. Boxplots zeigen Median und Interquantilrange. Ausreißer werden durch Sternchen dargestellt.

Zur Untersuchung von Gruppenunterschieden wurde eine ANOVA (Varianzanalyse) mit Messwiederholungen angewendet. Als Haupteinflussfaktoren wurden die Gruppenzugehörigkeit (Gruppeneffekt), der Zeitpunkt der Messung (Zeiteffekt) und deren Wechselwirkung (Gruppen x Zeit-Effekt) analysiert.

Zur statistischen Auswertung der Parameter NGAL, TNF- α und IL-6 wurde der natürliche Logarithmus (log) der Werte gebildet und nach einer graphischen Überprüfung der Normalverteilung mit den genannten Verfahren ausgewertet.

Für alle statistischen Tests wird ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5$ Prozent festgesetzt. Ein p-Wert $< 0,05$ deutet auf eine Ablehnung der Nullhypothese hin und gilt als signifikantes Ergebnis.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

Während des Untersuchungszeitraums wurden insgesamt 33 Patienten im septischen Schock in die Auswertung aufgenommen und die zelluläre ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten evaluiert.

Das Patientenkollektiv umfasst 13 Frauen und 20 Männer. Das Alter des jüngsten Patienten beträgt 36 Jahre, das Alter des ältesten 90 Jahre. Das Durchschnittsalter beläuft sich auf 66 Jahre. Tabelle 5 fasst die Eckdaten des Patientenkollektivs zusammen.

	Alle Patienten	Patienten ohne ANV	Patienten mit ANV	p-Wert
Patienten [n]	33	11	22	-
Jüngster Patient [Jahre]	36	40	36	-
Ältester Patient [Jahre]	90	87	90	-
Anzahl Frauen	13/33	5/11	8/22	0,61438
Anzahl Männer	20/33	6/11	14/22	
Kürzester Krankenhausaufenthalt [Tage]	4	5	4	-
Längster Krankenhausaufenthalt [Tage]	71	32	71	-
Mittlerer Krankenhausaufenthalt [Tage]	17,27 ±15,02	15,11 ±7,03	18,25 [*] ±17,37	0,239334
Anzahl Verstorbene	6/33	0/11	6/22	0,07696
Anzahl Überlebende	27/33	11/11	16/22	
Letalität [%]	18	0	27	-

Tabelle 5: Eckdaten des Patientenkollektivs

Dargestellt sind die Eckdaten des Patientenkollektivs (n=33).

* 6 Patienten verstorben

3.1.1 Demographische Daten

In Bezug auf Geschlecht, Alter und Body Mass Index (BMI) besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen (Tabelle 6).

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Geschlecht [%]						
männlich	20/33	6/11	5/8	2/4	7/10	0,86
weiblich	13/33	5/11	3/8	2/4	3/10	
Alter [Jahre]	66,15 ±16,42	60,09 ±16,77	74 ±12,98	80,25 ±6,75	60,9 ±16,79	0,054
BMI [kg/m²]	30,05 ±7,5	28,43 ±7,89	31,11 ±9,93	26,03 ±1,38	32,36 ±6,57	0,467

Tabelle 6: Demographische Daten

Dargestellt sind Geschlechterverteilung (Prozent) sowie Alter und BMI in verschiedenen Patientengruppen (MW±SD, n=33).

3.1.2 Komorbiditäten und Erregernachweis

Bei 14 Patienten konnte ein krankheitsverursachender Keim mittels eines positiven Erregernachweises gefunden werden. Ein positiver Erregernachweis unterscheidet sich hoch signifikant zwischen den Patientengruppen ($p < 0,01$) (Tabelle 7). In Bezug auf relevante Komorbiditäten lässt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen feststellen ($p = 0,085$; $p = 0,39$; $p = 0,197$; $p = 0,077$).

Im Hinblick auf ein komorbides Leberversagen findet sich ein Gruppenunterschied an der Grenze zur Signifikanz ($p = 0,085$). Tabelle 7 zeigt einen positiven Erregernachweis sowie relevante Komorbiditäten innerhalb des Patientenkollektivs.

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Erregernachweis positiv [%]	14/33	4/11	0/8	4/4	6/10	<0,01
Komorbiditäten [%]						
Leberversagen	3/33	0/11	0/8	0/4	3/10	0,085
Diabetes mellitus	11/33	2/11	4/8	1/4	5/10	0,39
Art. Hypertonie	13/33	2/11	5/8	1/4	5/10	0,197
chronisches NV	8/33	0/11	3/8	1/4	4/10	0,077

Tabelle 7: Erregernachweis und Komorbiditäten

Dargestellt ist ein positiver Erregernachweis und 4 relevante Komorbiditäten (Leberversagen, Diabetes mellitus, Art. Hypertonie, chronisches NV) innerhalb verschiedener Patientengruppen (n=33).

3.1.3 Einsatz von Vasopressoren

Vasopressoren kamen in der Therapie des septischen Schocks bei 11 Patienten zum Einsatz. Ein signifikanter Unterschied im Hinblick auf den Einsatz von Vasopressoren ergibt sich zwischen den Patientengruppen nicht ($p=0,33$) (Tabelle 8).

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Einsatz Vasopressoren [%]	11/33	3/11	4/8	0/4	4/10	0,33

Tabelle 8: Einsatz von Vasopressoren

Dargestellt ist der Prozentanteil von Patienten verschiedener Patientengruppen, in deren Behandlung Vasopressoren zum Einsatz kamen (n=33).

3.2 Nierenfunktion und physiologischer Zustand bei Aufnahme und im Verlauf des ICU-Aufenthalts

3.2.1 Nierenfunktion

Von den insgesamt 33 untersuchten Patienten im septischen Schock litten 22 Patienten zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme zusätzlich an einem ANV oder

entwickelten es im Verlauf ihres Krankenhausaufenthalts. Diese Patienten wurden entsprechend der AKIN-Klassifikation in drei Gruppen unterteilt. 8 Patienten befanden sich im AKIN-Stadium 1, 4 Patienten im AKIN-Stadium 2 und 10 Patienten im AKIN-Stadium 3.

Die Abbildungen 7 und 8 veranschaulichen die Verteilung der Patienten innerhalb des Patientenkollektivs entsprechend ihrer Nierenfunktion.

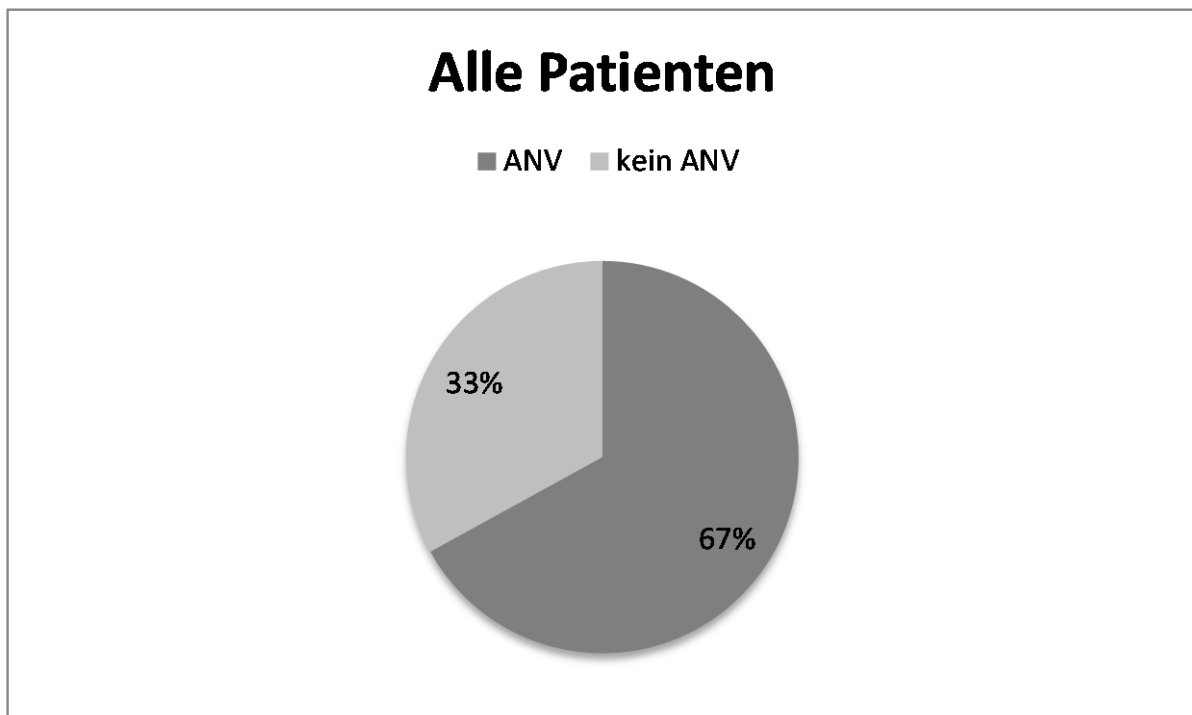


Abbildung 7: Verteilung der Patienten

Dargestellt ist die Verteilung der Patienten in Bezug auf die Entwicklung eines ANV. Zwei Drittel der untersuchten Patienten entwickelte während ihres Krankenhausaufenthalts ein ANV (n=33).

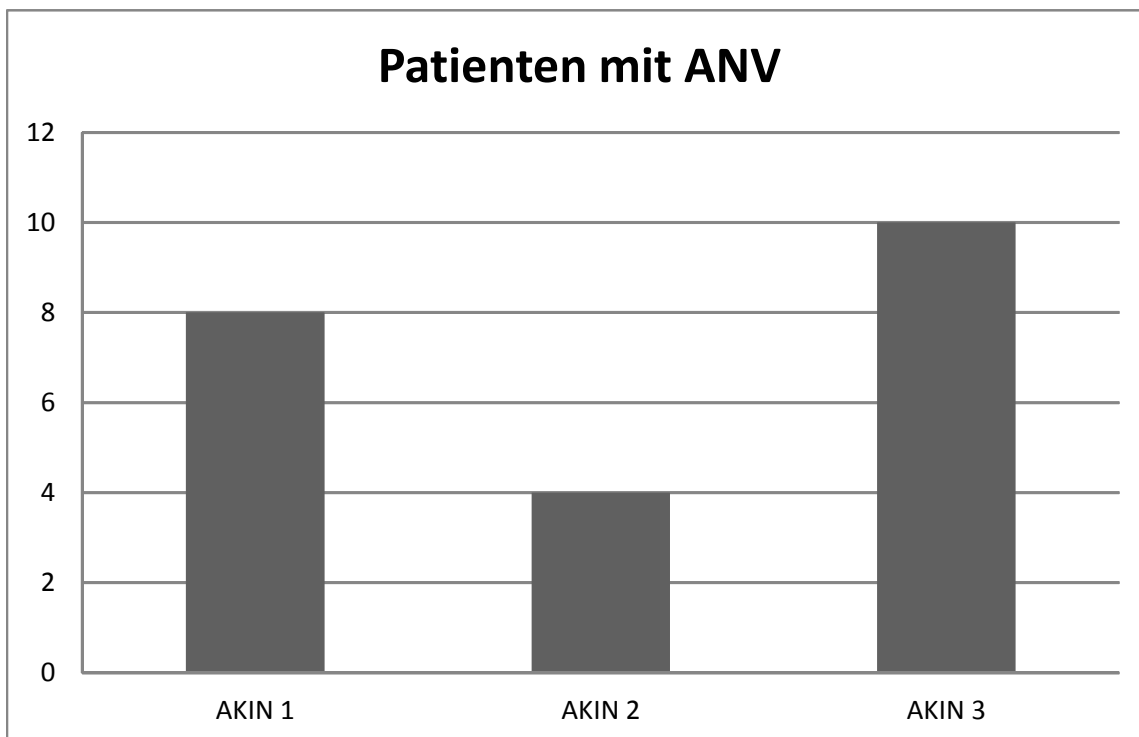


Abbildung 8: Verteilung der Patienten mit ANV

Dargestellt ist die Verteilung der Patienten mit ANV in Bezug auf den Grad der Nierenschädigung. Innerhalb der Patientengruppe mit ANV werden die Gruppen AKIN 1 (n=8), AKIN 2 (n=4) und AKIN 3 (n=10) unterschieden (n=22).

Zur Beurteilung der Nierenfunktion wurden der Serumkreatininwert und die glomeruläre Filtrationsrate der Patienten evaluiert. In der vorliegenden Untersuchung wurde zur Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate die vereinfachte Form der MDRD-Formel angewandt. In diese Formel gehen die Parameter Alter, Geschlecht, Hautfarbe und Serumkreatininwert ein.

Mit zunehmendem Grad der Nierenschädigung fällt die glomeruläre Filtrationsrate ab und der Serumkreatininwert steigt an. Folglich unterscheiden sich diese Werte in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen höchst signifikant ($p < 0,0001$).

Tabelle 9 zeigt die glomeruläre Filtrationsrate der Patienten zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station und im Verlauf des Krankenhausaufenthalts. Abbildung 9 stellt die glomeruläre Filtrationsrate der Patienten zum Zeitpunkt der Aufnahme graphisch dar.

Tabelle 10 zeigt die Evaluation der Serumkreatininwerte zu drei Zeitpunkten. Abbildung 10 veranschaulicht den Serumkreatininwert zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach der Aufnahme).

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Aufnahme						
eGFR [ml/min/1,73 m ²] Zeitpunkt 1	49,75 ±36,70	89,82 ±24,44	32,1 ±8,39	22,73 ±3,06	11,48 ±5,58	<0,0001
eGFR [ml/min/1,73 m ²] Zeitpunkt 2	57,85 ±47,05	109,16 ±33,4	33,53 ±10,32	21,1 ±2,32	16,65 ±6,43	<0,0001
eGFR [ml/min/1,73 m ²] Zeitpunkt 3	64,82 ±51,61	121,64 ±35,34	37,87 ±9,62	26,02 ±7,78	20,81 ±9,23	<0,0001

Tabelle 9: Glomeruläre Filtrationsrate

Dargestellt ist der Mittelwert der eGFR-Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (kein NV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3; n=33, MW±SD).

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Aufnahme						
Serumkreatinin [mg/dl] Zeitpunkt 1	2,28 ±1,94	0,88 ±0,26	1,95 ±0,45	2,56 ±0,62	5,69 ±2,02	<0,0001
Serumkreatinin [mg/dl] Zeitpunkt 2	2,07 ±1,61	0,75 ±0,21	1,89 ±0,46	2,72 ±0,67	4,28 ±1,76	<0,0001
Serumkreatinin [mg/dl] Zeitpunkt 3	1,85 ±1,4	0,67 ±0,17	1,62 ±0,31	2,4 ±0,82	3,6 ±1,38	<0,0001

Tabelle 10: Serumkreatininwerte

Dargestellt ist der Mittelwert der Serumkreatininwerte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (kein NV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3; n=33, MW±SD).

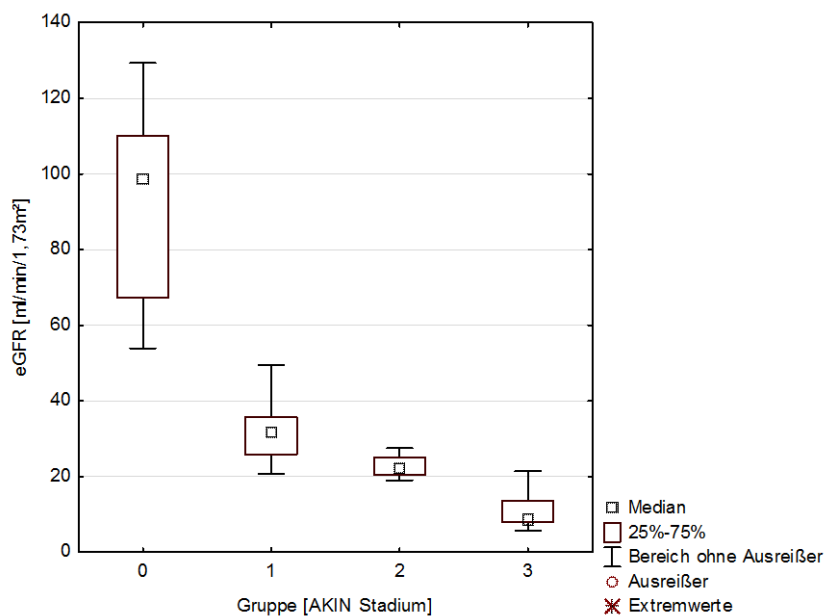


Abbildung 9: Glomeruläre Filtrationsrate bei Aufnahme

Dargestellt ist die eGFR in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station (**Gruppe 0 = kein ANV**, Gruppe 1 = AKIN-Stadium 1, Gruppe 2 = AKIN-Stadium 2, Gruppe 3 = AKIN-Stadium 3; n=33).

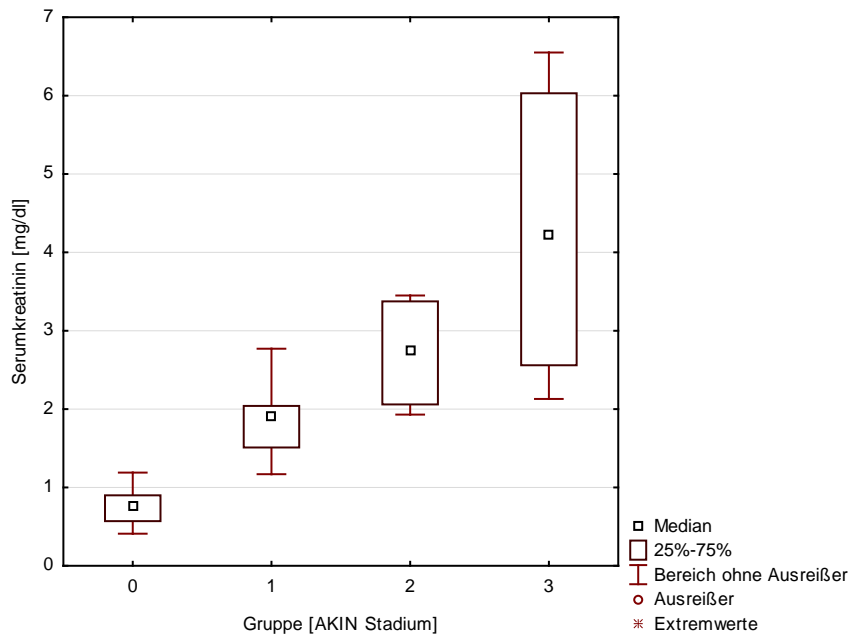


Abbildung 10: Serumkreatininwert zum Zeitpunkt 2- 48 Stunden

Dargestellt ist die Verteilung der Serumkreatininwerte zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) im Vergleich zwischen den 4 entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (**Gruppe 0 = kein ANV**, Gruppe 1 = AKIN-Stadium 1, Gruppe 2 = AKIN-Stadium 2, Gruppe 3 = AKIN-Stadium 3; n=33).

Innerhalb des gesamten Patientenkollektivs beträgt der niedrigste erreichte SAPS II 13 Punkte und der höchste erreichte SAPS II 61 Punkte.

Der SAPS II der Patienten unterscheidet sich zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station zwischen den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen signifikant ($p=0,016$). Je höher das AKIN-Stadium bzw. je schwerer der Grad der Nierenschädigung des Patienten ist, desto höhere Punktwerte des SAPS II werden festgestellt. Wird der SAPS II über den gesamten Zeitraum des Aufenthalts auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station evaluiert, ist der maximal erreichte Punktwert des SAPS II zwischen den verschiedenen Gruppen nicht signifikant ($p=0,077$).

Tabelle 11 zeigt den SAPS II zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station und den maximal erreichten Punktwert in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen. Abbildung 11 und 12 stellen diese Werte graphisch dar.

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
SAPS II bei Aufnahme	36,06 ±10,77	28,09 ±6,89	38,71 ±11,21	42 ±7,07	40,6 ±11,18	0,016
SAPS II maximaler Wert	39,32 ±10,65	32,73 ±9,45	42 ±7,75	43,25 ±6,5	43,4 ±12,17	0,077 n.s.

Tabelle 11: SAPS II bei Aufnahme und maximaler Wert

Dargestellt ist der Mittelwert des SAPS II zum Zeitpunkt der Aufnahme und der maximale mittlere SAPS II während des Aufenthalts der Patienten auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station (n=33, MW±SD).

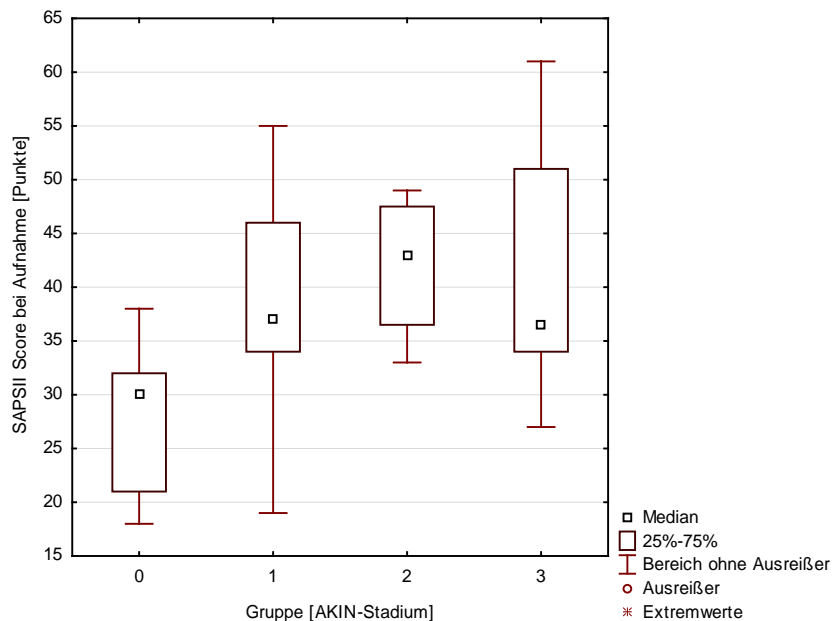


Abbildung 11: SAPS II bei Aufnahme

Dargestellt ist die Verteilung der Punktwerte des SAPS II zum Zeitpunkt der Aufnahme des Patienten auf der Intensiv- bzw. Intermediate-Care Station im Vergleich zwischen den 4 entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (**Gruppe 0 = kein ANV**, Gruppe 1 = AKIN-Stadium 1, Gruppe 2 = AKIN-Stadium 2, Gruppe 3 = AKIN-Stadium 3; n=33).

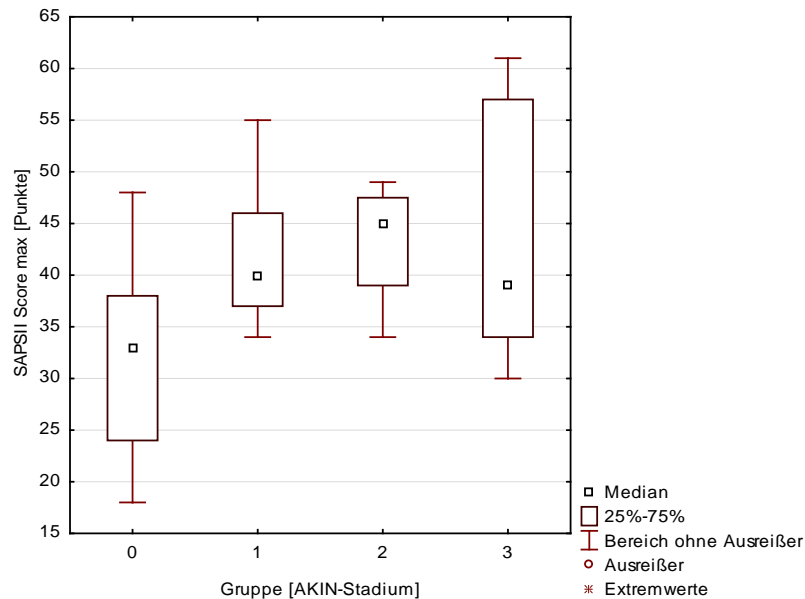


Abbildung 12: SAPS II maximaler Wert während ICU-Aufenthalt

Dargestellt ist der maximal erreichte Punktwert des SAPS II während des Aufenthaltes auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station im Vergleich zwischen den 4 eingeteilten Patientengruppen (**Gruppe 0 = kein ANV**, Gruppe 1 = AKIN-Stadium 1, Gruppe 2 = AKIN-Stadium 2, Gruppe 3 = AKIN-Stadium 3; n=33).

3.3 Klinisches Ergebnis und Nierenfunktionsparameter bei Entlassung

Insgesamt verstarben 6 Patienten des untersuchten Patientenkollektivs. Dies entspricht einer Gesamtletalität von 18 Prozent. Alle verstorbenen Patienten waren der Patientengruppe mit ANV zugeordnet, was zu einer Letalität von ca. 27 Prozent in dieser Gruppe führt.

Tabelle 12 zeigt den Anteil an Überlebenden in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen, der sich nicht signifikant zwischen den Gruppen unterscheidet ($p=0,11$).

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Überlebende [%]	27/33	11/11	7/8	3/4	6/10	0,11

Tabelle 12: Anteil an Überlebenden

Dargestellt ist der Anteil überlebender Patienten des gesamten Patientenkollektivs (total) sowie der Anteil Überlebender in den nach Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (kein NV, AKIN 1, AKIN2, AKIN 3; n=33).

Um die Nierenfunktion der Patienten zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus zu objektivieren, wurde die eGFR zu diesem Zeitpunkt evaluiert. Diese unterscheidet sich hoch signifikant zwischen den Gruppen ($p < 0,01$). Im Mittel nimmt die glomeruläre Filtrationsrate in allen Patientengruppen zum Zeitpunkt der Entlassung höhere Werte an als zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station.

Ein höheres AKIN-Stadium des Patienten während des ICU-Aufenthalts korreliert mit einer hoch signifikant niedrigeren glomerulären Filtrationsrate (repräsentiert durch die eGFR) zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus ($p < 0,01$).

Der Anteil verstorbener Patienten sowie die Nierenfunktion zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus (Restitutio a. i., Defektheilung / Dialyse, Tod) unterscheidet sich ebenso höchst signifikant zwischen den Gruppen ($p < 0,001$). Die Anzahl verstorbener Patienten steigt signifikant mit dem AKIN-Stadium an.

Abbildung 13 und Tabelle 13 stellen das klinische Ergebnis zum Zeitpunkt der Entlassung des Patienten aus dem Krankenhaus dar. Abbildung 14 veranschaulicht die eGFR unterschiedlicher Patientengruppen zum gleichen Zeitpunkt.

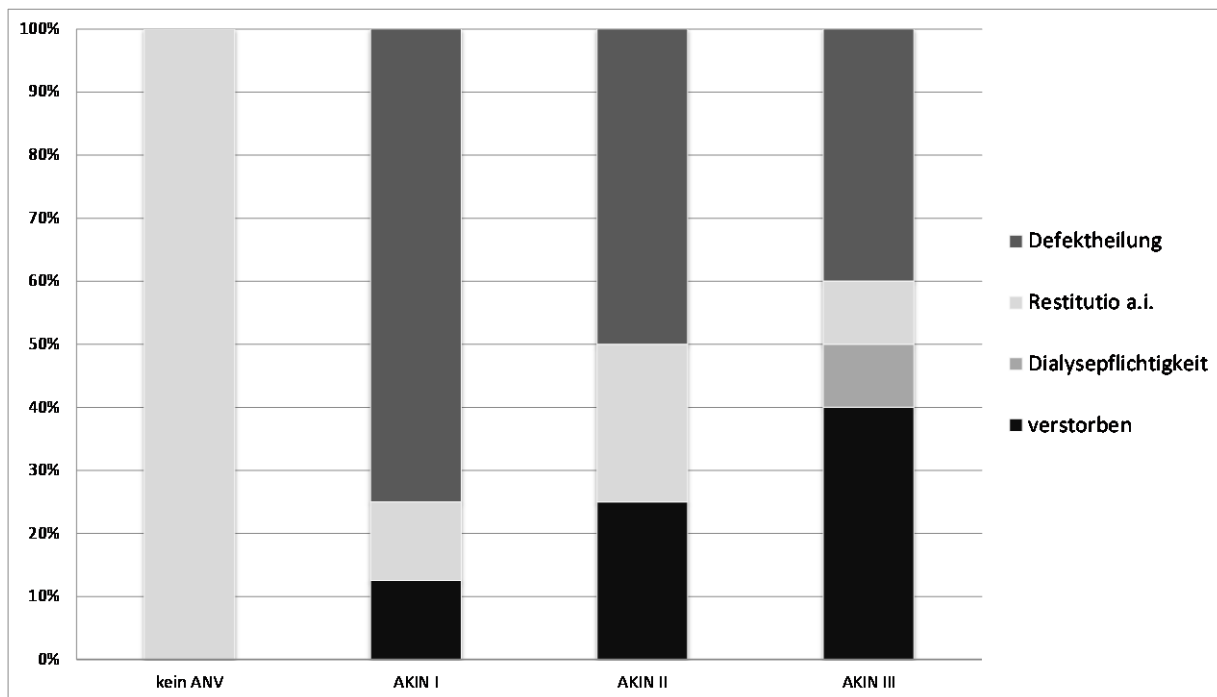


Abbildung 13: Klinisches Ergebnis

Dargestellt ist das klinische Ergebnis der Patienten in verschiedenen Gruppen (kein ANV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3) in Prozent. Es werden die Endpunkte "verstorben", vollständige Wiederherstellung der Nierenfunktion ("Restitutio a. i."), "Defektheilung" der Niere sowie "Dialysepflichtigkeit" zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus unterschieden.

	Total	kein NV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
Patienten [n]	33	11	8	4	10	-
Entlassung						
eGFR [ml/min/1,73 m ²]	73,29 ±47,01	118,66 ±27,5	39,73 ±11,9	40,77 ±19,37	34,8 ±31,16	<0,01
verstorben [%]	6/33	0/11	1/8	1/4	4/10	<0,001
Dialysepflichtigkeit [%]	1/33	0/11	0/8	0/4	1/10	
Restitutio a. i. [%]	14/33	11/11	1/8	1/4	1/10	
Defektheilung [%]	12/33	0/11	6/8	2/4	4/10	

Tabelle 13: Klinisches Ergebnis bei Entlassung

Dargestellt ist die glomeruläre Filtrationsrate repräsentiert durch die eGFR zum Zeitpunkt der Entlassung der Patienten aus dem Krankenhaus. Außerdem ist der Anteil verstorbenen Patienten, der Anteil dialysepflichtiger Patienten sowie der Anteil der Patienten, die mit einer vollständig (Restitutio a.

i.) oder eingeschränkt (Defektheilung) wiederhergestellten Nierenfunktion entlassen wurden, abgebildet (n=33, MW±SD).

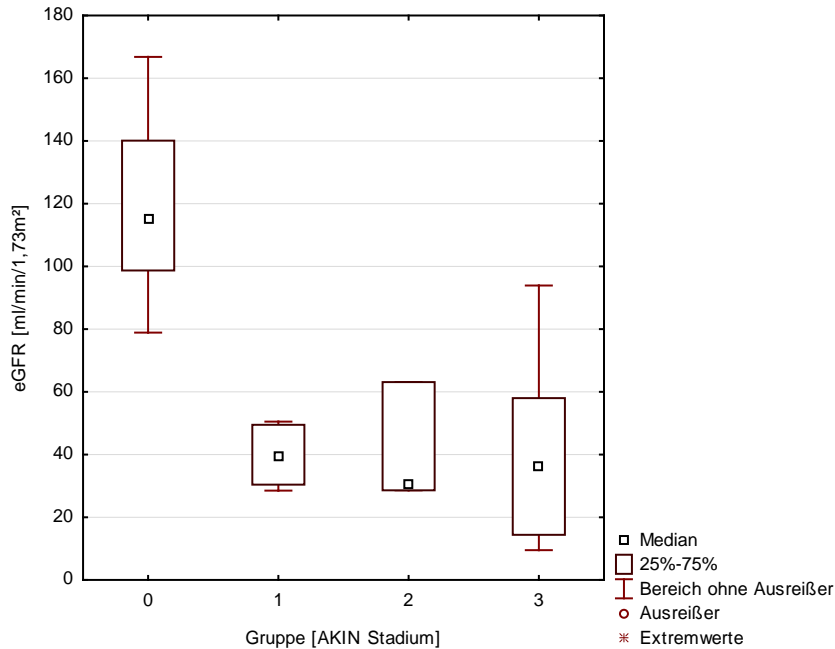


Abbildung 14: Glomeruläre Filtrationsrate bei Entlassung

Dargestellt ist die eGFR in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus (**Gruppe 0 = kein ANV**, Gruppe 1 = AKIN-Stadium 1, Gruppe 2 = AKIN-Stadium 2, Gruppe 3 = AKIN-Stadium 3; n=33).

3.4 Evaluation der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten

Die Evaluation der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten wurde zu drei Zeitpunkten durchgeführt und in Bezug auf die Nierenfunktion der Patienten ausgewertet.

Die Messungen erfolgten zu den drei folgenden Zeitpunkten:

Zeitpunkt 1: 24 Stunden

- Messung 1 erfolgt 0 bis 24 Stunden nach der stationärer Aufnahme des Patienten.

Zeitpunkt 2: 48 Stunden

- Messung 2 erfolgt 24 Stunden nach der Messung 1.

Zeitpunkt 3: 96 Stunden

- Messung 3 erfolgt 48 Stunden nach der Messung 2.

Zwei Messungen konnten aufgrund von einer Verlegung des Patienten in ein anderes Krankenhaus nicht durchgeführt und 6 Messungen aufgrund von Messfehlern nicht gewertet werden. Tabelle 23 zeigt alle im Rahmen der vorliegenden Untersuchung evaluierten ATP-Konzentrationen der CD4⁺ T-Lymphozyten (siehe Anhang).

Zum Zeitpunkt 1 beträgt die niedrigste ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten 18 ng/ml und die höchste ATP-Konzentration 782 ng/ml.

Zum Zeitpunkt 2 beträgt die niedrigste ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten 42 ng/ml und die höchste ATP-Konzentration 888 ng/ml.

Zum Zeitpunkt 3 beträgt die niedrigste ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten 43 ng/ml und die höchste ATP-Konzentration 947 ng/ml.

Tabelle 14 zeigt den Mittelwert (\pm SD) der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (kein NV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3) zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3.

Der mittlere Wert (\pm SD) der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten im Vergleich zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten ist in Tabelle 15 dargestellt.

Gruppe	Kein ANV	AKIN 1	AKIN 2	AKIN 3	p-Wert
ATP-Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 1	235,36 ±222,47	273,25 ±293,28	312,25 ±143,04	398 ±252,68	0,517
ATP-Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 2	247,73 ±153,62	206,17 ±191,69	192 ±86,09	467 ±226,14	0,026
ATP-Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 3	322,1 ±258,25	411,17 ±188,47	194,25 ±159,76	450,44 ±231,67	0,271

Tabelle 14: ATP-Konzentration von CD4+ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten

Dargestellt ist der Mittelwert (\pm SD) der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (kein ANV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3) zu den Zeitpunkten 1, 2, 3 (n=33, MW \pm SD).

Gruppe	Überlebende	Verstorbene	p-Wert
ATP- Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 1	295,3 ±242,74	363,5 ±285,47	0,256
ATP- Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 2	286,33 ±180,96	385,25 ±377,41	0,195
ATP- Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 3	376,92 ±233,32	313,5 ±261,3	0,768

Tabelle 15: ATP-Konzentration von CD4+ T-Lymphozyten nach Überleben

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm SD) der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in zwei Patientengruppen (Überlebende, Verstorbene) zu den Zeitpunkten 1, 2, 3 (n=33, MW \pm SD).

3.4.1 ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten während des Krankenhausaufenthalts

Im Rahmen der statistischen Auswertung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten wird eine Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen durchgeführt. Es werden drei Messwiederholungen zu den genannten Zeitpunkten 1, 2 und 3 durchgeführt.

Als Haupteinflussfaktoren werden die Gruppenzugehörigkeit (kein ANV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3), die Zeit (Zeitpunkt 1, 2 und 3) und deren Wechselwirkung untersucht.

Die Anwendung einer zweifaktoriellen Varianzanalyse mit den beiden Hauptfaktoren „Gruppe“ und „Zeit“ ergibt eine hoch signifikante Wechselwirkung dieser beiden Faktoren ($p < 0,01$). Ein signifikanter Gruppenunterschied ($p = 0,15$) oder signifikanter Zeit-Effekt ($p = 0,11$) wurde allerdings nicht gefunden. Abbildung 15 stellt die ATP-Konzentration der verschiedenen Gruppen entsprechend der Nierenfunktion graphisch dar. Tabelle 16 zeigt die entsprechenden p-Werte in Bezug auf die analysierten Faktoren.

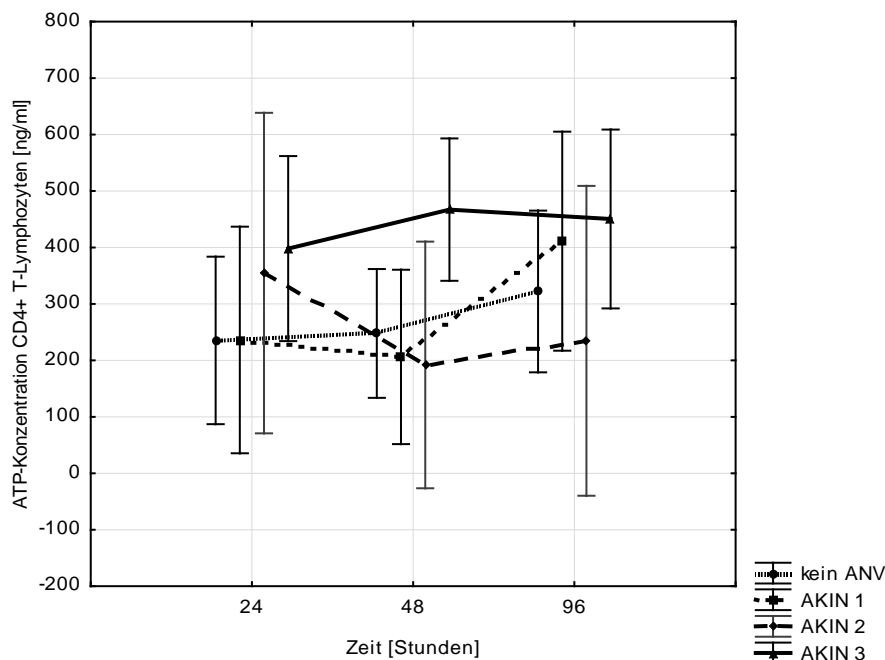


Abbildung 15: Nierenschädigung und ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten

Dargestellt ist der Mittelwert sowie die niedrigste und die höchste ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten [ng/ml] in den 4 Gruppen „kein ANV“ (n=11), „AKIN 1“ (n=8), „AKIN 2“ (n=4) und „AKIN 3“ (n=10). Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 markiert (n=33).

Faktor	p-Wert	Interpretation
Gruppe	0,15	Nicht signifikant
Zeit	0,11	Nicht signifikant
Gruppe*Zeit	<0,01	Signifikant

Tabelle 16: Gruppeneinteilung nach AKIN-Klassifikation

Dargestellt sind die p-Werte mit Interpretation (signifikant, nicht signifikant) im Rahmen der analysierten Fragestellung nach einem signifikanten Unterschied der ATP-Konzentration CD4⁺ T-Lymphozyten in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (entsprechen Abbildung 15). Analyisierte Faktoren sind die Gruppe und die Zeit sowie deren Wechselwirkung (Gruppe*Zeit).

Unter Beibehaltung der Gruppeneinteilung (kein NV, AKIN 1, AKIN 2 und AKIN 3) ergibt sich in der Analyse eines Gruppenunterschieds zu den einzelnen Zeitpunkten 1, 2 und 3 zunächst ein signifikanter Gruppenunterschied in der ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) ($p=0,026$). Da mit der Fragestellung dieser Untersuchung drei unabhängige Hypothesen am gleichen Datensatz getestet werden, wird eine Bonferroni-Korrektur vorgenommen, um eine Alphafehler-Kumulierung zu vermeiden. Es ergibt sich ein adjustierter p-Wert zum Zeitpunkt 2 (siehe Tabelle 17), der zu diesem Zeitpunkt einen Gruppenunterschied in der ATP-Konzentration CD4⁺ T-Lymphozyten an der Grenze zur Signifikanz zeigt ($p=0,078$).

Zeitpunkt	Faktor	p-Wert	p-Wert adjustiert
Zeitpunkt 1	Gruppe	0,56	1
Zeitpunkt 2	Gruppe	0,026	0,078
Zeitpunkt 3	Gruppe	0,27	0,81

Tabelle 17: Einteilung nach Zeitpunkt

Dargestellt sind die p-Werte und die adjustierten p-Werte nach der Anwendung einer Bonferroni-Korrektur im Rahmen der Analyse eines Gruppenunterschieds bei einer Einteilung entsprechend den Zeitpunkten 1, 2 und 3.

3.4.2 ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten bei Entlassung

In der Gruppe von Patienten mit ANV verstarben 6 Patienten, ein Patient war zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus dialysepflichtig. Bei 12 Patienten erholte sich die Nierenfunktion partiell und bei drei Patienten vollständig (Restitutio a.i.).

Die statistische Auswertung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten entsprechend der Nierenfunktion zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus erfolgt ebenfalls mittels einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholungen.

Im Unterschied zur Auswertung der Werte entsprechend der Nierenfunktion bzw. des AKIN-Stadiums während des Krankenhausaufenthalts, erfolgt die Einteilung der Patienten in drei Gruppen entsprechend der Nierenfunktion zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus (Restitutio a. i., Defektheilung/Dialyse, Tod).

Haupteinflussfaktoren bilden die Gruppe (Restitutio a. i., Defektheilung/Dialyse und Tod), die Zeit (Zeitpunkt 1, 2 und 3) und deren Wechselwirkung.

Tendenziell unterscheidet sich die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit ANV im Hinblick auf die Nierenfunktion zum Zeitpunkt der Entlassung, wenn sie zum Zeitpunkt 2 gemessen wird ($p=0,0565$). Diese Messung erfolgte ca. 48 Stunden nach der Aufnahme des Patienten auf der Intensiv- bzw. Intermediate-Care Station. Zu diesem Zeitpunkt haben Patienten, deren Nierenfunktion vollständig wiederhergestellt ist (Resitutio a. i.), tendenziell eine geringere ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten. Dennoch ist der Unterschied nicht signifikant. Ein Wert von $p=0,0565$ lässt sich allerdings als Trend werten.

Ein signifikanter Gruppenunterschied ($p=0,91$) oder signifikanter Zeit-Effekt ($p=0,11$) wurde nicht gefunden.

Abbildung 16 stellt die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten der Gruppen in Relation zur Nierenfunktion bei Entlassung graphisch dar. Tabelle 18 zeigt die entsprechenden p-Werte in Bezug auf die analysierten Faktoren.

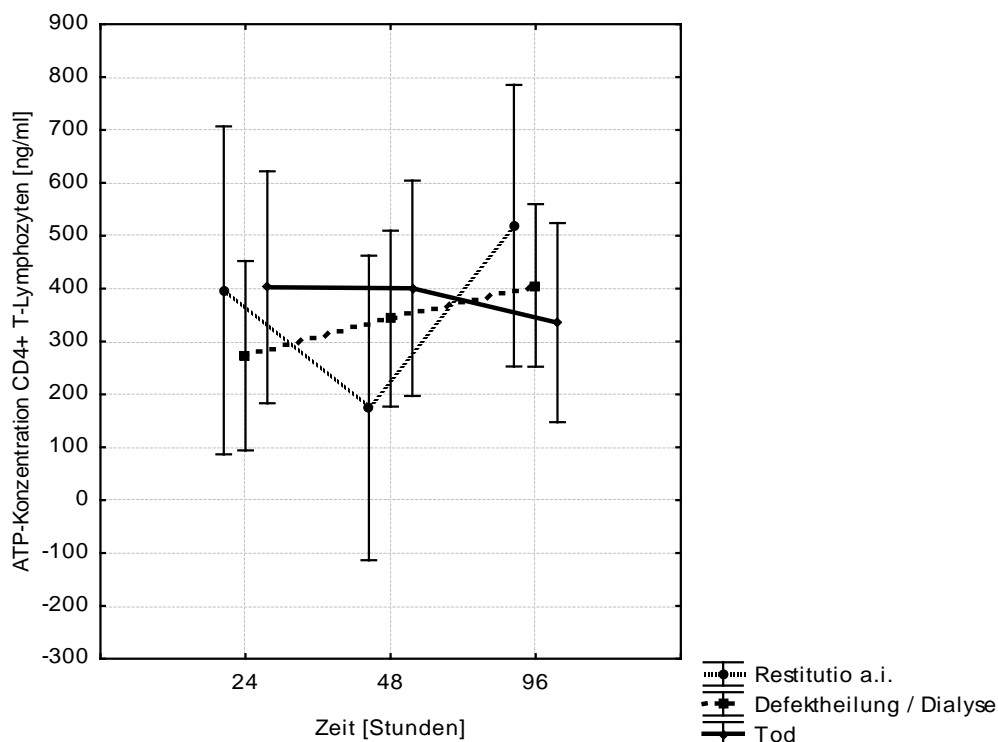


Abbildung 16: ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten in Relation zur Nierenfunktion bei Entlassung

Dargestellt ist der Mittelwert sowie die niedrigste und die höchste ATP-Konzentration CD4⁺ T-Lymphozyten [ng/ml] in den drei Gruppen „Restitutio a. i.“ (n=14), „Defektheilung/Dialyse“ (n=13), „Tod“ (n=6). Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 dargestellt (n=33).

Faktor	p-Wert	Interpretation
Gruppe	0,91	Nicht signifikant
Zeit	0,11	Nicht signifikant
Gruppe*Zeit	0,0565	Nicht signifikant

Tabelle 18: Gruppeneinteilung nach klinischem Ergebnis

Dargestellt sind die zu Abbildung 16 zugehörigen p-Werte mit Interpretation. In der Frage nach einem signifikanten Unterschied der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in den entsprechend dem klinischem Ergebnis eingeteilten Patientengruppen („Restitutio a. i.“, „Defektheilung/Dialyse“, „Tod“) wurden die Hauptfaktoren „Gruppe“, „Zeit“ sowie deren Wechselwirkung (Gruppe*Zeit) untersucht.

3.5 Spezialanalytik

Die statistische Auswertung der Parameter NGAL, TNF- α und IL-6 entspricht dem beschriebenen Vorgehen in der Analyse der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten.

3.5.1 NGAL

Als Vergleichsparameter in Bezug auf eine Nierenschädigung wurde das NGAL im Urin der Patienten zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 bestimmt und entsprechend der Auswertung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zwischen den verschiedenen Patientengruppen verglichen.

Das NGAL nimmt in der Patientengruppe mit ANV hoch signifikant höhere Werte an als in der Patientengruppe ohne NV ($p < 0,01$, Abbildung 17). Abbildung 3.5 stellt die NGAL-Konzentration der Patientengruppen mit und ohne ANV graphisch dar. Tabelle 19 zeigt die entsprechenden p-Werte in Bezug auf die analysierten Faktoren.

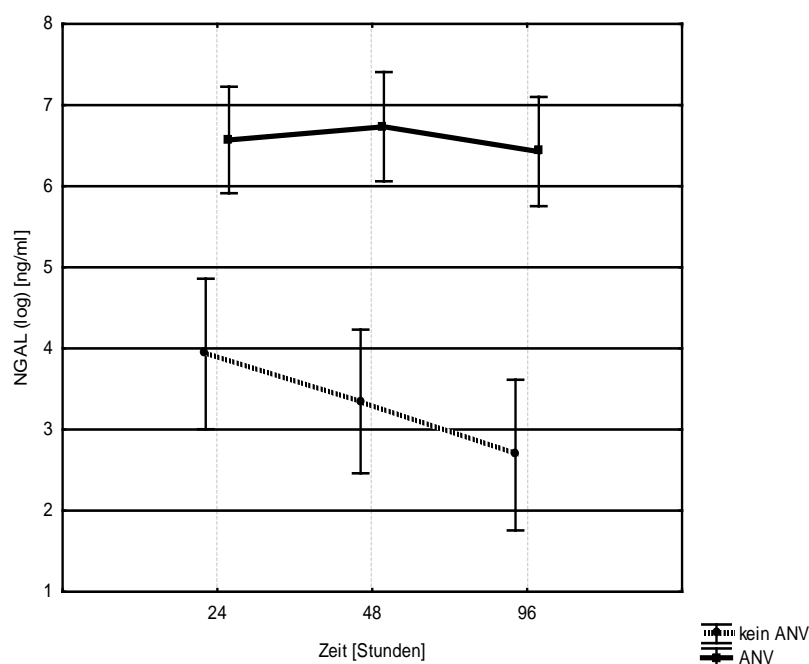


Abbildung 17: NGAL-Konzentration im Urin zu drei Zeitpunkten

Dargestellt ist der Logarithmus des Mittelwertes sowie der niedrigsten und der höchsten NGAL-Konzentration [ng/ml] im Urin der Patienten in den Patientengruppen mit und ohne ANV. Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 dargestellt (n=33).

Faktor	p-Wert	Interpretation
Gruppe	<0,01	Signifikant
Zeit	0,036	Signifikant
Gruppe*Zeit	0,132	Nicht signifikant

Tabelle 19: Gruppeneinteilung nach ANV

Dargestellt sind die p-Werte mit Interpretation (signifikant, nicht signifikant) im Rahmen der analysierten Fragestellung nach einem signifikanten Unterschied der NGAL-Konzentration im Urin der Patienten in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (entsprechen

Gruppen der Abbildung 17). Analyalisierte Faktoren sind die Gruppe und die Zeit sowie deren Wechselwirkung (Gruppe*Zeit).

Entsprechend der Untersuchung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten wurde die NGAL-Konzentration im Urin der entsprechend dem Schweregrad der Nierenschädigung eingeteilten Patientengruppen verglichen. Eine höhergradige Nierenschädigung ist mit einem hoch signifikant erhöhten NGAL-Wert im Urin der Patienten verbunden ($p < 0,01$, siehe Abbildung 18). Abbildung 18 stellt die NGAL-Konzentration der entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen dar. Tabelle 20 zeigt die entsprechenden p-Werte in Bezug auf die analysierten Faktoren.

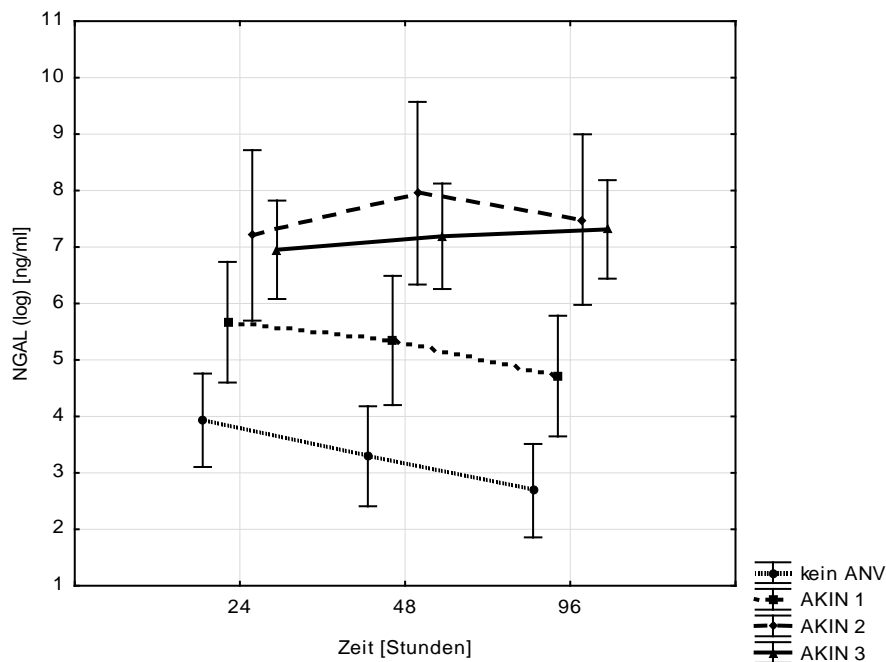


Abbildung 18: Nierenschädigung und NGAL-Konzentration

Dargestellt ist der Logarithmus des Mittelwertes sowie des niedrigsten und die höchsten Wertes der NGAL-Konzentration [ng/ml] im Urin der Patienten in den 4 Gruppen „kein ANV“ (n=11), „AKIN 1“ (n=8), „AKIN 2“ (n=4) und „AKIN 3“ (n=10). Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 dargestellt (n=33).

Faktor	p-Wert	Interpretation
Gruppe	<0,01	Signifikant
Zeit	0,059	Nicht signifikant
Gruppe*Zeit	0,14	Nicht signifikant

Tabelle 20: Gruppeneinteilung nach AKIN-Klassifikation

Dargestellt sind die p-Werte mit Interpretation (signifikant, nicht signifikant) im Rahmen der analysierten Fragestellung nach einem signifikanten Unterschied der NGAL-Konzentration im Urin in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen (entsprechen Gruppen der Abbildung 18). Analytierte Faktoren sind die Gruppe und die Zeit sowie deren Wechselwirkung (Gruppe*Zeit).

In Bezug auf das klinische Ergebnis der Patienten ergab die Untersuchung der NGAL-Konzentrationen im Urin im zeitlichen Verlauf keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patientengruppen ($p=0,15$). Tendenziell ist eine erhöhte NGAL-Konzentration allerdings mit einem schlechteren klinischen Ergebnis verbunden (siehe Abbildung 19). Abbildung 19 stellt die NGAL-Konzentration der Patientengruppen in Relation zur Nierenfunktion zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus graphisch dar. Tabelle 21 zeigt die entsprechenden p-Werte in Bezug zu den analysierten Faktoren.

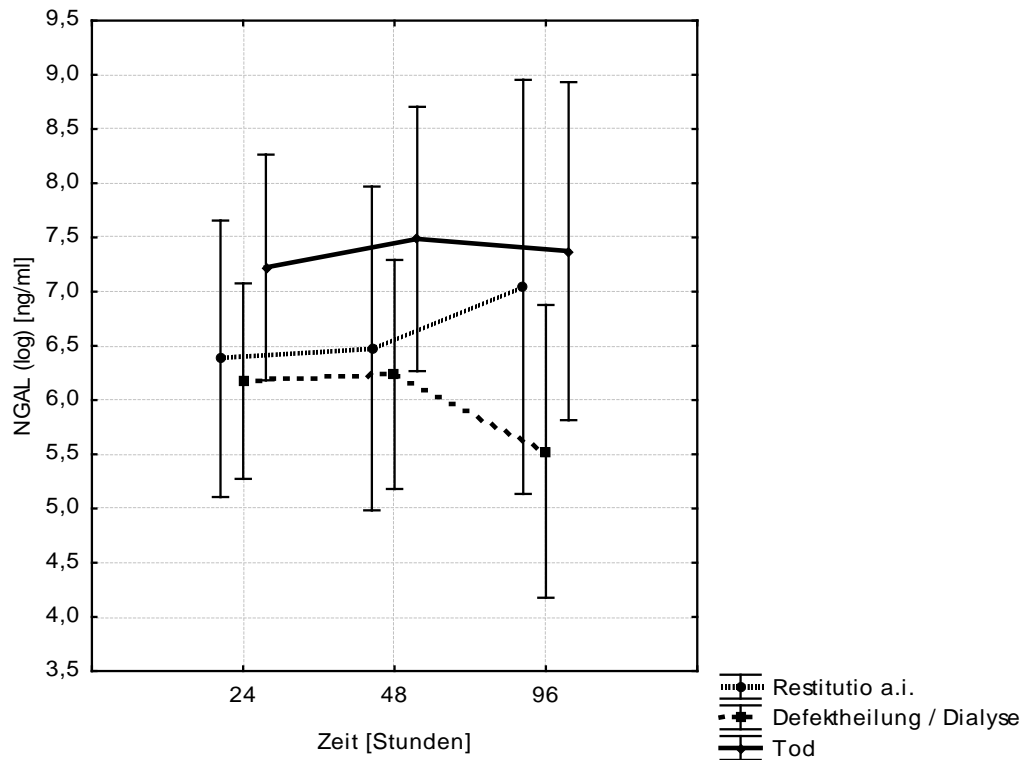


Abbildung 19: NGAL-Konzentrationen zu drei Zeitpunkten in Relation zur Nierenfunktion bei Entlassung

Dargestellt ist der Logarithmus des Mittelwertes sowie des niedrigsten und die höchsten Wertes der NGAL-Konzentration [ng/ml] im Urin der Patienten in den Gruppen „Restitutio a. i.“ (n=14), „Defektheilung/Dialyse“ (n=13), „Tod“ (n=6). Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 dargestellt (n=33).

Faktor	p-Wert	Interpretation
Gruppe	0,10	Nicht signifikant
Zeit	0,58	Nicht signifikant
Gruppe*Zeit	0,15	Nicht signifikant

Tabelle 21: Gruppeneinteilung nach renalem Ergebnis

Dargestellt sind die p-Werte mit Interpretation (signifikant, nicht signifikant) im Rahmen der analysierten Fragestellung nach einem signifikanten Unterschied der NGAL-Konzentration im Urin der Patienten in den entsprechend dem renalen Ergebnis eingeteilten Patientengruppen (entsprechen der Abbildung 19). Analysierte Faktoren sind die Gruppe und die Zeit sowie deren Wechselwirkung (Gruppe*Zeit).

3.5.2 TNF- α

Entsprechend der Untersuchung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten wurde die Serumkonzentration des TNF- α zwischen den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen verglichen.

Eine Wechselwirkung der Konzentration des TNF- α zwischen den Patientengruppen im zeitlichen Verlauf besteht nicht ($p=0,596$). Es konnte allerdings ein hoch signifikanter Gruppenunterschied nachgewiesen werden ($p=0,0015$).

Bei einer Einteilung der Patienten entsprechend dem klinischen Ergebnis (Restitutio a. i., Defektheilung / Dialyse, Tod) konnte keine Wechselwirkung zwischen den Patientengruppen im zeitlichen Verlauf festgestellt werden ($p=0,247$). Auch ein Gruppenunterschied konnte nicht nachgewiesen werden ($p=0,189$).

Abbildung 20 stellt die Serumkonzentration des TNF- α in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen dar.

Abbildung 21 zeigt die Konzentration zum Zeitpunkt 2.

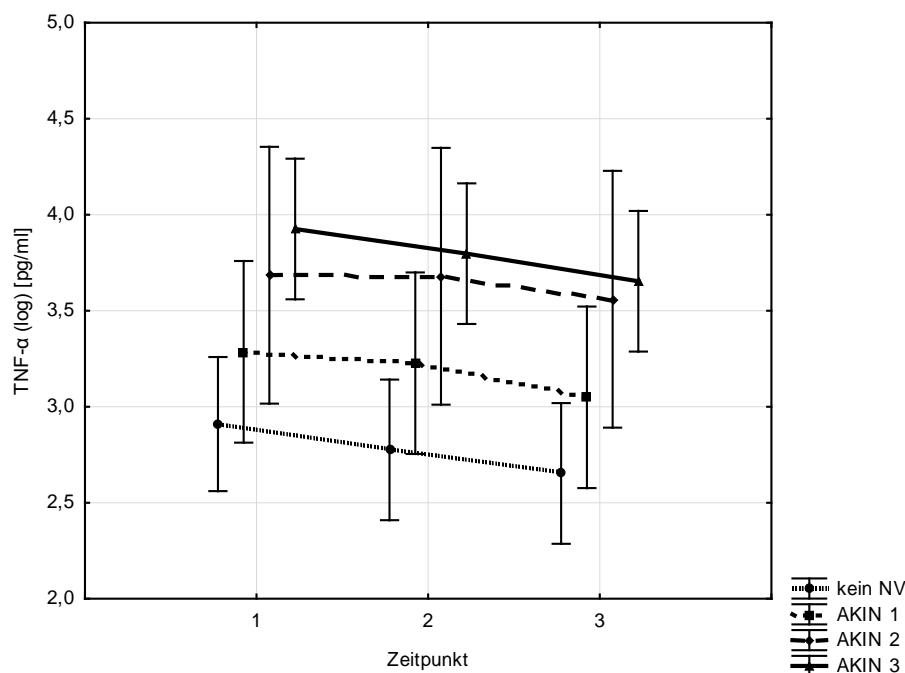


Abbildung 20: Nierenschädigung und TNF- α -Konzentration

Dargestellt ist der Logarithmus des Mittelwertes sowie des niedrigsten und des höchsten Wertes der Serumkonzentration des TNF- α [pg/ml] der 4 Gruppen „kein ANV“ (n=11), „AKIN 1“ (n=8), „AKIN 2“ (n=4) und „AKIN 3“ (n=10). Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 dargestellt (n=33).

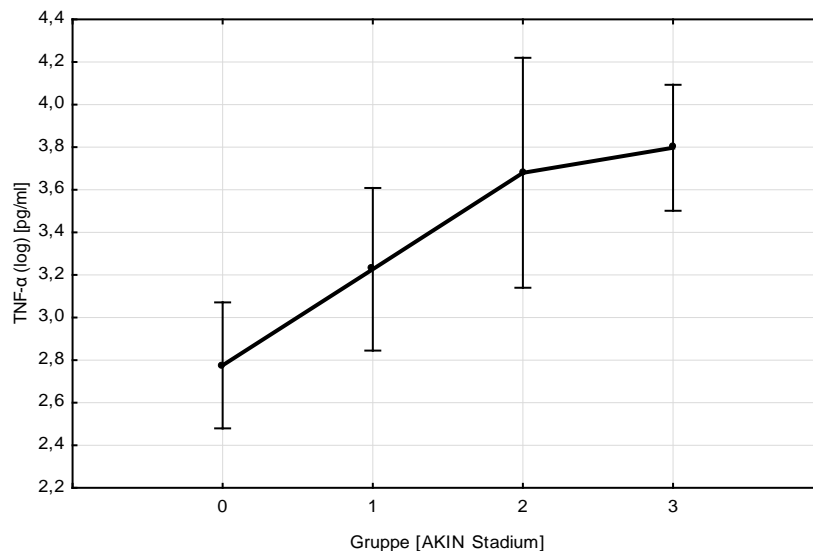


Abbildung 21: TNF- α -Konzentration zum Zeitpunkt 2

Dargestellt ist der Logarithmus des Mittelwertes sowie des niedrigsten und die höchsten Wertes der Serumkonzentration des TNF- α [pg/ml] in den 4 entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen zum Zeitpunkt 2 (**Gruppe 0 = kein ANV (n=11)**, Gruppe 1 = AKIN-Stadium 1 (n=8), Gruppe 2 = AKIN-Stadium 2 (n=4), Gruppe 3 = AKIN-Stadium 3 (n=10); n=33).

3.5.3 IL-6

Entsprechend der Untersuchung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten wurde die Serumkonzentration des IL-6 zwischen den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen verglichen.

Eine Wechselwirkung der Konzentration des IL-6 zwischen den Patientengruppen im zeitlichen Verlauf besteht nicht ($p=0,3$). Es konnte allerdings ein signifikanter Gruppenunterschied nachgewiesen werden ($p=0,043$).

Bei der Einteilung der Patienten entsprechend dem klinischen Ergebnis (Restitutio a. i., Defektheilung / Dialyse, Tod) konnte ebenfalls keine Wechselwirkung zwischen den Patientengruppen im zeitlichen Verlauf nachgewiesen werden ($p=0,187$). Es konnte aber wiederum ein signifikanter Gruppenunterschied festgestellt werden

($p=0,045$). Abbildung 22 stellt die Serumkonzentration des IL-6 in den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen dar.

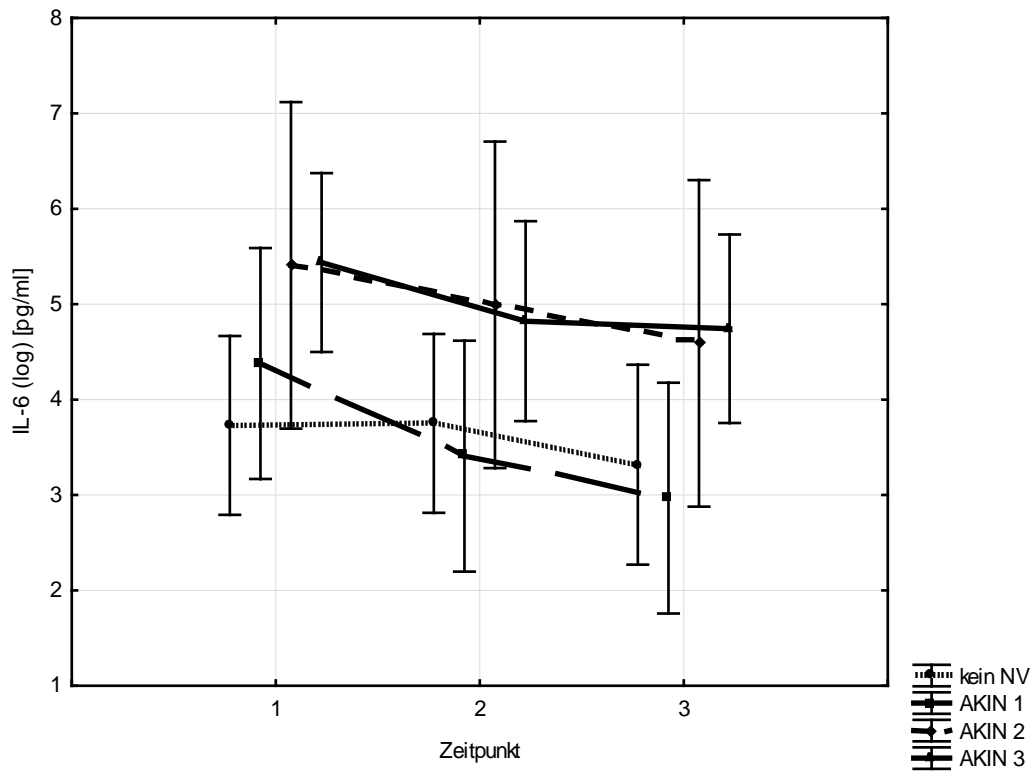


Abbildung 22: Nierenschädigung und IL-6-Konzentration

Dargestellt ist der Logarithmus des Mittelwertes sowie des niedrigsten und des höchsten Wertes der Serumkonzentration des IL-6 [pg/ml] in den 4 Gruppen „kein ANV“ (n=11), „AKIN 1“ (n=8), „AKIN 2“ (n=4) und „AKIN 3“ (n=10). Es sind die Werte zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 abgebildet (n=33).

4 Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung wird die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten im septischen Schock mit und ohne ANV evaluiert. Die immunologischen Vorgänge sind bei diesem Krankheitsbild von entscheidender Bedeutung. Sie bestimmen den Krankheitsverlauf sowie das klinische Ergebnis der Patienten bei der Entlassung aus dem Krankenhaus maßgeblich mit.

Dennoch sind diese Vorgänge bis heute nur unvollständig erforscht, sodass die Diagnostik des ANV weiterhin im Wesentlichen auf der Bestimmung der Serumkreatininkonzentration basiert. Das klinische Ergebnis der Patienten ist jedoch stark von einer frühen Diagnostik und Intervention abhängig. Dies hat zur Folge, dass die Bestimmung der Serumkreatininkonzentration, die erst zu einem relativ späten Zeitpunkt der Nierenschädigung ansteigt, nicht hinreichend ist. Darüber hinaus fehlen neue endogene Marker, die auch Prognosen im Rahmen des Sepsis-induzierten ANV zulassen. Aus diesen Problemstellungen resultierend ist der Gegenstand dieser Untersuchung die Evaluierung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten, um die Relevanz dieses immunologischen Parameters im Rahmen des Sepsis-induzierten ANV zu beleuchten.

4.1 Forschungsdesign

Die vorliegende prospektive, klinische, nicht-verblindete Untersuchung hat zum Ziel, die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten im septischen Schock zu drei Zeitpunkten zu evaluieren. Durch die unizentrische Durchführung und mit den daraus folgenden Limitierungen konnten 33 Patienten untersucht werden. Trotz der begrenzten Patientenzahl wurden statistisch aussagekräftige Daten erhoben.

In einem ähnlichen inhaltlichen Kontext veröffentlichten Lawrence et al. 2010 eine Studie. Sie evaluierten im Rahmen einer Kohortenstudie die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von 52 septischen Patienten zu drei Zeitpunkten (Lawrence et al. 2010). Bei dem Vergleich des Forschungsdesigns ist zu beachten, dass in der vorliegenden Untersuchung bei n=29 Patienten alle drei Messungen vollständig

durchgeführt wurden, was zum Zeitpunkt der dritten Messung im Vergleich mit der von Lawrence et al. veröffentlichten Studie annähernd der doppelten Patientenzahl entspricht. Durch den Ausschluss von Patienten konnten Lawrence et al. die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zum Zeitpunkt 3 nur noch bei n=15 Patienten evaluieren. Außerdem wurde in der vorliegenden Untersuchung die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten über einen Zeitraum von 96 Stunden nach der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station ermittelt. Lawrence et al. evaluierten über einen Zeitraum von 8 Tagen (192 Stunden). Diese beiden Faktoren sind im Vergleich der Ergebnisse eines Gruppen x Zeit-Effektes zu berücksichtigen. Die Auswertung eines Gruppen x Zeit-Effektes ist bei dem Krankheitsgeschehen der Sepsis von besonderer Bedeutung, da der Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station, welcher als erster Messzeitpunkt der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in der vorliegenden Untersuchung sowie in der von Lawrence et al. gewählt wurde, zweifellos nicht dem Krankheitsbeginn entspricht.

4.2 Methodik und Repräsentativität der Daten

4.2.1 Entwicklung und Anwendungsgebiete des ImmuKnow®

Im Jahr 2002 begann die Firma CYLEX® mit der Vermarktung des Funktionstests ImmuKnow® zur Bestimmung der zellvermittelten Immunantwort von immunsupprimierten Patienten in Vorbereitung auf eine Organtransplantation. Transplantatempfänger sind durch die nötige immunsuppressive Therapie einem hohen Infektionsrisiko ausgesetzt. Wird diese Therapie nicht ausreichend intensiv durchgeführt, kann eine Organabstoßungsreaktion erfolgen. Der Funktionstest ImmuKnow® sollte bei dem Verdacht einer Organabstoßungsreaktion eine nicht invasive Bestimmung des Immunstatus des Transplantatempfängers ermöglichen, ohne dass eine Biopsie des Transplantates durchgeführt werden müsste. Es sollten Möglichkeiten entstehen, durch die Ermittlung des Immunstatus des Patienten die immunsuppressive Therapie zu individualisieren und Patienten mit hohem Risiko für eine frühe Organabstoßungsreaktion anhand ihrer zellvermittelten Immunantwort zu identifizieren (López-Hoyos et al. 2013).

Seither wurde der Test vor allem in Studien im Rahmen von Organtransplantationen erprobt und seine Aussagekraft diskutiert. In einer 2012 veröffentlichten Metaanalyse wurden 10 Studien evaluiert, in denen ImmuKnow® zur Identifikation einer Infektion oder akuten Organabstoßungsreaktion lebertransplantierten Patienten eingesetzt worden war. Rodrigo et al. kamen zu dem Ergebnis, dass der Test eine geeignete Methode zur Bestimmung eines Infektionsrisikos sei (Rodrigo et al. 2012). Die signifikante Heterogenität zwischen den untersuchten Studien lasse den Schluss allerdings nicht zu, unter Zuhilfenahme dieses Tests lebertransplantierte Patienten mit dem Risiko einer Organabstoßungsreaktion identifizieren zu können (Rodrigo et al. 2012).

Im Rahmen erster klinischer Studien wurde der Test im Kontext des Krankheitsbildes einer Sepsis erprobt (Lawrence et al. 2010). Immunologische Vorgänge modulieren das Krankheitsgeschehen im Rahmen einer Sepsis entscheidend mit, sind aber unvollständig erforscht.

Da ImmuKnow® einen Rückschluss auf den individuellen Immunstatus des Patienten zulässt, ist er in Bezug auf diese Forschungsbemühungen eine vielversprechende Methode. In der vorliegenden Untersuchung soll die Relevanz dieser Testmethode auf das immunologische Geschehen innerhalb des Sepsis-induzierten ANV erweitert werden.

4.2.2 Grenzen der Methode

Die Evaluierung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten mit Hilfe des immunologischen bioluminometrischen Funktionstests ImmuKnow® weist im Rahmen der Fragestellungen dieser Untersuchung Grenzen auf. Im Rahmen des Sepsis-induzierten ANV spielen septische Toxine der Sepsis-verursachenden Erreger eine besondere Rolle, denen der Körper des Patienten mit seinem Immunsystem und den zugehörigen T-Lymphozyten ausgesetzt ist. Bei 11 Patienten konnte ein solcher Keim identifiziert werden. Der vorliegende Versuchsansatz mit Heparin-antikoaguliertem Vollblut, aus dem die CD4⁺ T-Lymphozyten des Patienten selektiert werden, ist während der vorausgehenden Stimulationsphase diesen septischen Toxinen nicht mehr ausgesetzt. *In vitro* erfolgt eine ca. 18-stündige Inkubationsphase, die einer *in vivo*-Situation mit der Einwirkung septischer Toxine auf das Immunsystem des Organismus nicht entspricht. So kann die Methode

möglicherweise die tatsächliche ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten nicht korrekt wiedergeben, was zu Schwierigkeiten bei der Interpretation der Ergebnisse führen kann.

Weiter wird ImmuKnow[®] von der Herstellerfirma CYLEX[®] als qualitativer Funktionstest des Immunsystems deklariert. Außer Frage steht die Tatsache, dass die intrazelluläre ATP-Konzentration mit der Funktionsfähigkeit einer Zelle direkt in Zusammenhang steht. Dennoch bleibt offen, welche Funktion der Zelle mit dieser Methode wirklich geprüft wird. Letztendlich wird durch eine Stimulation mit PHA nur die Aktivierbarkeit der CD4⁺ T-Lymphozyten geprüft. Die Aussagekraft über den absoluten Wert der ATP-Konzentration der Zellen ist fraglich. Auch wird die ATP-Konzentration nicht in ein Verhältnis zur absoluten Lymphozytenzahl gesetzt und bewertet.

Eine weitere Schwierigkeit in der Bewertung der Ergebnisse und Einordnung in die komplexen Vorgänge des Sepsis-induzierten ANV besteht darin, dass mit der Methode zwar CD4⁺ T-Lymphozyten selektiert werden, aber keine Subtypen dieser Gruppe weiter differenziert werden können.

Trotz der genannten Limitierungen stehen derzeit kommerziell keine etablierten Testsysteme zur Verfügung, die einen Rückschluss auf die zellvermittelte Immunantwort des Patienten im septischen Schock zulassen.

4.2.2.1 Bisherige Ergebnisse des Testverfahrens

Das vorliegende Testverfahren wurde in erster Linie zur Bestimmung der zellvermittelten Immunantwort von organtransplantierten Patienten eingesetzt und erprobt. Selbst bei der Identifizierung eines Infektionsrisikos oder der Gefahr einer Organabstoßungsreaktion auf Grundlage des Testergebnisses des ImmuKnow[®] zeigt sich kein einheitliches Bild in den Studienergebnissen. Die Aussagekraft des Testergebnisses bezüglich eines Krankheitsbildes wie der Sepsis, das sehr komplexe immunologische Vorgänge beinhaltet, ist schwer zu beurteilen. Eine ATP-Konzentration ≤ 225 ng/ml ist den Herstellerangaben zufolge als eine schwache Immunantwort zu bezeichnen. In der vorliegenden Untersuchung liegen 43 Werte der insgesamt 91 erhobenen Konzentrationen in diesem Bereich, das entspricht ca. 47 Prozent. Dies unterstreicht, dass eine systemische Infektion bei dem untersuchten Patientenkollektiv im Vordergrund steht. Außerdem stimmt diese Tatsache

mehrheitlich mit den Ergebnissen aktueller Studien überein, die eine geringe ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten mit einem erhöhten Infektionsrisiko assoziieren (Serban et al. 2009, Rodrigo et al. 2012, Akimoto et al. 2013). Gleichzeitig erschwert eben diese geringe ATP-Konzentration eine Interpretation der Ergebnisse und macht eine Graduierung der Immunantwort innerhalb dieses schmalen Bereiches auch in einem Zeitverlauf von drei Messungen nahezu unmöglich.

4.2.3 Patientenkollektiv

In beiden Patientengruppen mit und ohne ANV besteht kein signifikanter Unterschied in Bezug auf demographische Aspekte. Die Verteilung von Alter ($p=0,054$) und Geschlecht ($p=0,86$) unterscheidet sich nicht signifikant. Es handelt sich demnach um vergleichbare Patientenkollektive. Die insgesamt 33 untersuchten Patienten sind eine repräsentative Stichprobe für die auf internistischen Intensivstationen anzutreffenden Patienten im septischen Schock und verteilen sich im Verhältnis 2:1 auf die Gruppen mit ANV ($n=22$) und ohne ANV ($n=11$). Auch im Hinblick auf relevante Komorbiditäten zeigt sich kein Unterschied zwischen den Gruppen. Die Patientengruppen sind somit gleich zusammengesetzt und geeignet, die zugrunde liegenden Fragestellungen vergleichend zu untersuchen.

In der Patientengruppe mit ANV ($n=22$) verteilen sich die Patienten wie folgt: 8 Patienten befanden sich im AKIN-Stadium 1, 4 Patienten im AKIN-Stadium 2 und 10 Patienten im AKIN-Stadium 3. Durch die limitierte Patientenzahl bilden die Patienten im AKIN-Stadium 2 mit 4 zugeordneten Patienten die am schwächsten repräsentierte Patientengruppe in der vorliegenden Untersuchung.

4.3 Ergebnisse

4.3.1 Nierenfunktion

Die Nierenfunktion wird in dieser Untersuchung anhand der glomerulären Filtrationsrate und des Serumkreatininwertes beurteilt.

Bei allen Patienten, die überlebten, hat sich die Nierenfunktion über die Dauer des Krankenhausaufenthaltes verbessert. In allen Patientengruppen steigt die glomeruläre Filtrationsrate bei der Betrachtung der Gesamtdauer des

Krankenhausaufenthaltes an. Ebenso fällt der Serumkreatininwert in allen Patientengruppen mit Ausnahme der Patienten im AKIN-Stadium 2 kontinuierlich ab. Dies ist als ein grundsätzliches Ansprechen auf die stationäre Intensivtherapie zu bewerten. Ein geringer Anstieg des mittleren Serumkreatininwertes in der Gruppe von Patienten im AKIN-Stadium 2 zum Zeitpunkt 2 ist sicherlich in der geringen Patientenanzahl dieser Gruppe begründet.

Bei zunehmendem Schweregrad der initialen Nierenschädigung bzw. einem höheren AKIN-Stadium des Patienten stellt sich zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus die Nierenfunktion höchst signifikant schlechter dar ($p < 0,001$).

4.3.2 Klinisches Ergebnis

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung sind insgesamt 6 Patienten verstorben. Alle verstorbenen Patienten sind der Gruppe mit ANV zugeordnet gewesen ($p = 0,077$). Dies entspricht einer Letalität von 27 Prozent in der Patientengruppe mit ANV, die somit deutlich unter den in der Literatur angegebenen Werten von ca. 60 Prozent (Uchino et al. 2005) liegt. Diese vergleichsweise niedrige Letalität ist womöglich auch dem Ausschluss gewisser Hochrisikokollektive wie zum Beispiel organ- oder stammzelltransplantierte Patienten geschuldet.

Neben der Nierenfunktion wurde der klinische Zustand jedes Patienten mit Hilfe des SAPS II ausgewertet, der eine Beurteilung der Erkrankungsschwere von Intensivpatienten basierend auf physiologischen Parametern ermöglicht. Der SAPS II wurde als Aufnahmescore entwickelt (Le Gall et al. 1993) und ist in der vorliegenden Untersuchung zu diesem Zeitpunkt am aussagekräftigsten. Insgesamt wurde er während des ICU-Aufenthaltes der Patienten täglich evaluiert.

Zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station erreichen die Patienten ohne ANV mit im Mittel 28,09 ($\pm 6,89$) Punkten deutlich geringere Werte im SAPS II als Patienten mit ANV (AKIN 1: 38,71 ($\pm 11,21$); AKIN 2: 42 ($\pm 7,07$); AKIN 3: 40,6 ($\pm 11,18$)). Die Zunahme der Punktwerte im SAPS II spiegelt eine zunehmende Erkrankungsschwere wider. Insgesamt korreliert die mit dem SAPS II evaluierte Erkrankungsschwere der untersuchten Patienten im septischen Schock signifikant mit dem Grad der Nierenschädigung ($p = 0,016$). Bei der Beurteilung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten ist der Schluss somit

zulässig, dass die Patienten in der Gruppe mit ANV insgesamt und mit zunehmendem Grad der Nierenschädigung auch schwerer erkrankt sind.

4.3.3 ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten

Insgesamt kann bei der Betrachtung des Zeitverlaufs der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten über einen Zeitraum von 96 Stunden nach dem Zeitpunkt der Aufnahme des Patienten auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppe von Patienten im septischen Schock mit ANV und ohne ANV festgestellt werden ($p=0,93$). Bei der weiteren Einteilung der Patienten entsprechend dem Grad der Nierenschädigung ergibt sich ein hoch signifikanter Unterschied der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in den Patientengruppen (kein ANV, AKIN 1, AKIN 2, AKIN 3) im zeitlichen Verlauf ($p<0,01$), sodass wir den Gruppenunterschied zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 weiter analysierten:

Zum Zeitpunkt der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station unterscheidet sich die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten nicht signifikant zwischen den entsprechend der Nierenfunktion eingeteilten Patientengruppen ($p=0,517$).

Zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) zeigt die Evaluierung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in der vorliegenden Untersuchung einen Gruppenunterschied an der Grenze zur Signifikanz ($p=0,078$). Bei Patienten im AKIN-Stadium 3 fällt die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten im Mittel annähernd doppelt so hoch aus im Vergleich zum Mittelwert von Patienten, die während des ICU-Aufenthaltes kein ANV entwickelt hatten. Die Mittelwerte (\pm SD) liegen zum Zeitpunkt 2 bei 247,73 ($\pm 153,62$) ng/ml in der Patientengruppe ohne ANV und 467 ($\pm 226,14$) ng/ml in der Gruppe von Patienten im AKIN-Stadium 3.

Zum Zeitpunkt 3 (ca. 96 Stunden nach Aufnahme) kann wiederum kein signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen festgestellt werden ($p=0,271$), wobei tendenziell wieder ein höherer Grad der Nierenschädigung mit einer höheren ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten korreliert.

Insgesamt liegt die mittlere ATP-Konzentration zum Zeitpunkt 3 (ca. 96 Stunden nach Aufnahme) in allen Gruppen mit Ausnahme der Patienten im AKIN-Stadium 2 etwas höher als zum Zeitpunkt der Aufnahme. Die Mittelwerte der Gruppen fallen bis auf drei Ausnahmen, die den Herstellerangaben zufolge mit Mittelwerten ≤ 225 ng/ml als „schwache Immunzellantwort“ zu interpretieren sind, in die Kategorie einer „moderaten Immunzellantwort“. Allerdings ist bei dieser Kategorisierung zu berücksichtigen, dass alle Mittelwerte eine sehr starke Varianz zeigen und diese Kategorisierung des Herstellers im Hinblick auf die vorliegende Untersuchung sicherlich nicht hinreichend ist.

4.3.3.1 ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten und Überleben

Die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den Patienten, die den septischen Schock überlebt haben und denen, die im Verlauf verstorben sind. Zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) lässt sich allerdings ein Trend erkennen, der bei verstorbenen Patienten eine höhere ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zeigt ($p=0,195$). Der Mittelwert (\pm SD) der ATP-Konzentration überlebender Patienten beträgt 286,33 ($\pm 180,96$) ng/ml und 385,25 ($\pm 377,41$) ng/ml in der Gruppe verstorbener Patienten.

Lawrence et al. zeigten in ihrer 2010 veröffentlichten Studie, die die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock untersuchte, Mittelwerte (\pm SD) von Patienten, die überlebt hatten, im Bereich von 431 (± 41) ng/ml und bei verstorbenen Patienten Mittelwerte im Bereich von 266 (± 53) ng/ml (Lawrence et al. 2010).

Hierbei zeigten überlebende Patienten im Gegensatz zu den vorliegenden Untersuchungsergebnissen deutlich höhere ATP-Konzentrationen als Patienten, die im Verlauf verstorben waren. Allerdings ist bei der Gegenüberstellung der beiden Untersuchungen zu beachten, dass sich die Differenzen der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in einem schmalen Bereich von ca. 120 - 150 ng/ml bewegen und sich das Messniveau nicht grundsätzlich unterscheidet.

4.3.3.2 ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten und klinisches Ergebnis

Eine weitere Einteilung der untersuchten Patienten erfolgt anhand des klinischen Ergebnisses zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus: Es wurden die

drei Patientengruppen „Restitutio a. i.“, „Defektheilung/Dialyse“ und „Tod“ gebildet. Bei der Untersuchung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten dieser Gruppen im zeitlichen Verlauf konnte ein Unterschied nahe am Signifikanzniveau nachgewiesen werden ($p=0,0565$).

Die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten unterscheidet sich bei unterschiedlichem klinischen Ergebnis nicht signifikant zwischen den Gruppen ($p=0,91$), auch ergibt sich kein signifikanter Zeit-Effekt ($p=0,11$). Allerdings sollte der Wert $p=0,0565$ bei dieser Gruppeneinteilung entsprechend dem klinischen Ergebnis als Trend gewertet werden und zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) ist in der vorliegenden Untersuchung die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten der Patienten, die mit einer vollständig wiederhergestellten Nierenfunktion („Restitutio a. i.“) entlassen wurden, deutlich niedriger im Vergleich mit den zwei anderen Gruppen („Defektheilung/Dialyse“, „Tod“), die ein wesentlich schlechteres klinisches Ergebnis zeigen.

4.3.3.3 Zusammenfassung und Teststärkeanalyse

Zusammenfassend zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung, dass Patienten im septischen Schock mit einer höhergradigen Nierenschädigung bei einer Messung zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach der Aufnahme) tendenziell höhere ATP-Konzentrationen von CD4⁺ T-Lymphozyten vorweisen, als Patienten mit einer geringergradigen oder ausgebliebenen Nierenschädigung ($p=0,078$). Außerdem kann ein Trend aufgezeigt werden, dass die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten mit dem klinischen Ergebnis von Patienten im septischen Schock korreliert. Eine niedrigere ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten bei einer Messung zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) macht tendenziell das klinische Ergebnis einer vollständig wiederhergestellten Nierenfunktion („Restitutio a. i.“) zum Zeitpunkt der Entlassung wahrscheinlich ($p=0,0565$).

Durch die limitierte Fallzahl ist die vorliegende Untersuchung beim Signifikanznachweis eingeschränkt. Eine Teststärkeanalyse ermöglicht die Berechnung einer Fallzahl zu untersuchender Patienten, mit der unter Berücksichtigung des Forschungsdesigns ein Signifikanzniveau erreicht werden kann. So kann die Mindestanzahl von Patienten im Rahmen einer einfaktoriellen Varianzanalyse berechnet werden, die es ermöglicht, einen signifikanten Gruppenunterschied zwischen den drei Gruppen „Re-

stitutio a. i.“, „Defektheilung/Dialyse“ und „Tod“ zum Beispiel zum Zeitpunkt 2 (ca. 48 Stunden nach Aufnahme) mit einer Wahrscheinlichkeit von 80 Prozent (Teststärke = 0,8) zu finden. Werden ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5$ Prozent und eine mittlere Effektstärke ($f=0,25$) angenommen, müssten mindestens 159 Patienten untersucht werden, um einen signifikanten Gruppenunterschied feststellen zu können - 53 in jeder der drei Gruppen.

4.3.4 Spezialanalytik: NGAL, TNF- α , IL-6 zu drei Zeitpunkten

Ein vielversprechender sensitiver Marker in der Frühdiagnostik des ANV ist die Bestimmung des NGAL im Urin. Makris et al. evaluierten die NGAL-Konzentration im Urin kritisch kranker Patienten in den ersten 5 Tagen nach der Aufnahme auf der Intensivstation und stellten eine erhöhte Konzentration fest, die sich in der Vorhersage eines ANV mit einer Sensitivität von 0,91 und Spezifität von 0,95 dem Marker der Serumkreatininkonzentration als deutlich überlegen zeigte (Makris et al. 2009). Bezugnehmend auf das Sepsis-induzierte ANV stellten Bagshaw et al. außerdem eine höhere NGAL-Konzentration im Plasma und Urin von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV gegenüber Patienten mit einem ANV nicht septischer Genese fest (Bagshaw et al. 2010). Eine Korrelation zwischen dem Grad der Nierenschädigung und der NGAL-Konzentration konnte in dieser Untersuchung nicht festgestellt werden (Bagshaw et al. 2010).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung stimmen mit diesen Studienergebnissen überein. Die NGAL-Konzentrationen von Patienten mit ANV sind deutlich höher im Vergleich zu der Patientengruppe ohne ANV ($p<0,01$). Außerdem nimmt die NGAL-Konzentration bei den Patienten mit ANV mit dem Schweregrad der Nierenschädigung zu ($p<0,01$).

Im Hinblick auf die prognostische Aussagekraft dieses Markers zeigte eine von van Deursen et al. veröffentlichte Studie, dass eine erhöhte NGAL-Konzentration bei herzinsuffizienten Patienten mit einem von der Nierenfunktion unabhängigen erhöhten Mortalitätsrisiko assoziiert war (van Deursen et al. 2014).

In der vorliegenden Untersuchung lässt sich ebenfalls ein Trend erkennen, dass die NGAL-Konzentration von Patienten im septischen Schock, die in der vorliegenden Untersuchung zu den genannten Zeitpunkten innerhalb der ersten 4 Tage nach der Aufnahme auf der Intensiv- bzw. Intermediate Care-Station bestimmt wurde, auch mit

dem klinischen Ergebnis der Patienten zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus in Verbindung gebracht werden kann. So haben die Patienten mit einem schlechteren klinischen Ergebnis bei Entlassung auch eine tendenziell höhere NGAL-Konzentration im Urin ($p=0,15$).

Zunehmend werden auch inflammatorische Zytokine im Geschehen des ANV untersucht. Im Rahmen einer pharmakologischen Inhibition proinflammatorischer Zytokine könnten diese Untersuchungen in der Diagnostik und Therapie des ANV relevant sein. Die Konzentration des TNF- α wurde vor allem in Studien zum nephrotoxischen Cisplatin-induzierten ANV evaluiert. Am Mausmodell zeigten Ramesh und Reeves eine angestiegene Konzentration des TNF- α bei einem durch die Injektion von Cisplatin induzierten ANV (Ramesh und Reeves 2002).

In der vorliegenden Untersuchung zeigt sich ebenfalls eine erhöhte Konzentration des TNF- α bei Patienten im septischen Schock, die ein ANV entwickelten. Zu den gemessenen drei Zeitpunkten haben Patienten mit einer höhergradigen Nierenschädigung auch eine entsprechend höhere Serumkonzentration des TNF- α ($p=0,0015$).

Das IL-6 ist als ein weiteres proinflammatorisches Zytokin in der Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV von Bedeutung. Simmons et al. stellten in einer prospektiven multizentrischen Studie fest, dass eine erhöhte Konzentration des IL-6 mit einer erhöhten Mortalität des ANV korreliert (Simmons et al. 2004). In der vorliegenden Untersuchung konnte ein signifikanter Gruppenunterschied in der Konzentration des IL-6 nachgewiesen werden. Sowohl ein höherer Grad der Nierenschädigung ($p=0,043$), als auch ein schlechteres klinisches Ergebnis zum Zeitpunkt der Entlassung aus dem Krankenhaus ($p=0,045$) sind mit einer erhöhten Konzentration des IL-6 assoziiert.

Die erhöhte Konzentration des TNF- α und IL-6 zeigen deutlich die Beteiligung proinflammatorischer Zytokine im Geschehen eines Sepsis-induzierten ANV.

4.4 Neue diagnostische Marker des ANV

Im Zentrum aktueller Forschungsbemühungen steht die frühe Diagnosestellung eines ANV mit Hilfe eines neuen endogenen Markers. Darüber hinaus ist auch die Einschätzung der klinischen und renalen Prognose des Patienten im Rahmen eines

ANV von Bedeutung. Tabelle 22 zeigt 4 neue Marker, die in der Frühdiagnostik eines ANV relevant sind.

Biomarker	Mechanismus	Studie	Fallzahl [n]	Bedeutung
Cystatin-C	Glomerulär filtriert – gestörte tubuläre Reabsorption → Anstieg im Serum	Herget-Rosenthal et al. 2004	85	Diagnostik des ANV geht einer Diagnostik mittels Serumkreatinin 1-2 Tage voraus
NGAL	Hochregulation → Anstieg im Serum und Urin	Bagshaw et al. 2010	83	Diagnostik des Sepsis-induzierten ANV
		Clerico et al. 2012	Metaanalyse	Prognose des ANV
L-FABP	Vorgeformt und Glomerulär filtriert – gestörte tubuläre Reabsorption → Anstieg im Urin	Matsui et al. 2012	85	Frühe Prädiktion eines beginnenden ANV
		Ferguson et al. 2010	92	Prognose des ANV
KIM-1	Hochregulation → Anstieg im Urin	Huang und Don-Wauchope 2011	Metaanalyse	Diagnostik des ANV innerhalb der ersten 24 Stunden

Tabelle 22: Neue diagnostische Marker

Die Tabelle stellt neue diagnostische Marker des ANV (Cystatin-C, NGAL, L-FABP und KIM-1) dar. Sie zeigt den diagnostisch relevanten Pathomechanismus, relevante Studien und die Bedeutung des Markers.

Bisher hat sich allerdings keiner der Marker als überlegen herausgestellt, sodass im klinischen Alltag immer noch die Diagnostik des ANV mit Hilfe der Serumkreatininkonzentration dominiert. Eine prognostische Aussage über das klinische bzw. renale Ergebnis der Patienten mit ANV ist mit diesen Markern kaum möglich.

Vanmassenhove et al. diskutierten in einer 2013 veröffentlichten Publikation 87 relevante Veröffentlichungen im Kontext neuer diagnostischer Biomarker des ANV (Vanmassenhove et al. 2013). Es wurden Studien berücksichtigt, die die Marker NGAL, KIM-1, Cystatin C, IL-6, IL-18, NAG, GST und L-FABP untersuchten. Vanmassenhove et al. resümierten, dass die diagnostische Relevanz dieser Marker im Rahmen eines ANV in den Publikationen von schlecht bis exzellent reiche und zum aktuellen Zeitpunkt keine einheitliche Aussage in Bezug auf ihren diagnostischen Wert getroffen werden könne (Vanmassenhove et al. 2013). Vor einer Einführung in die klinische Praxis sei der Beweis der Verlässlichkeit eines Markers in weiteren Untersuchungen entscheidend (Vanmassenhove et al. 2013).

Eine weitere Schwachstelle der neuen Biomarker besteht darin, dass sie von der Niere lediglich eliminiert werden, aber keine Aussage über den renalen Gewebeschaden bzw. Wiederherstellungsprozess im Rahmen eines ANV zulassen.

In der Pathogenese des Sepsis-induzierten ANV kommt es nach einer renalen Hypoperfusion, die einen tubulären Epithelschaden verursacht, zu einer postischämischen Gewebewiederherstellung, die unter anderem vom intrarenalen Entzündungsgeschehen moduliert wird (Devarajan 2006). Es fehlt ein Biomarker, der einen Rückschluss auf diesen renalen Wiederherstellungsprozess zulässt.

4.4.1 Rolle der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten

Die Evaluierung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten eröffnet neue Möglichkeiten einerseits im Hinblick auf die Diagnostik des ANV mit Hilfe eines Markers, der in das renale Entzündungsgeschehen involviert ist und andererseits in Bezug auf eine Abschätzung der renalen bzw. klinischen Prognose von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV:

In der Diagnostik ist es ein von der renalen Elimination unabhängiger Marker, der in das Entzündungsgeschehen im Rahmen des ANV involviert ist. Außerdem korreliert

die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV in der vorliegenden Untersuchung am ehesten mit dem renalen Ergebnis der Patienten bei der Entlassung aus dem Krankenhaus.

4.4.2 Bezug zu aktuellen Forschungsergebnissen

Unsere Feststellung, dass Patienten mit einem besseren renalen Ergebnis nach einem Sepsis-induziertem ANV tendenziell eine niedrigere ATP-Konzentration bei einer Messung 48 Stunden nach der Aufnahme zeigten, deckt sich mit Ergebnissen aktueller Studien, in denen die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten bei nierentransplantierten Patienten untersucht wurde.

Wang et al. veröffentlichten 2013 eine Studie, deren Ergebnis zeigt, dass die ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten von nierentransplantierten Patienten mit einer akuten Abstoßungsreaktion signifikant höher war als in der Gruppe von nierentransplantierten Patienten ohne eine solche Abstoßungsreaktion (Wang et al. 2013). Nach dem Abschluss der Therapiemaßnahmen zur Behandlung der Abstoßungsreaktion wurden darüber hinaus signifikant niedrigere Werte als vor Beginn der Therapie erreicht (Wang et al. 2013).

Unsere Untersuchungsergebnisse lassen Überlegungen zu, dass niedrigere ATP-Konzentrationen von CD4⁺ T-Lymphozyten ein niedrigeres Risiko für immunmodulierte Nierengewebeschäden beinhalten oder auch eine schnellere Wiederherstellung der Nierenfunktion nach einem Sepsis-induzierten ANV begünstigen.

Im Gegensatz dazu zeigte eine 2010 veröffentlichte Kohortenstudie, dass eine niedrigere ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten septischer Patienten, gemessen zum Zeitpunkt der Aufnahme der Patienten auf der Intensivstation, mit einem schlechteren klinischen Ergebnis korreliert (Lawrence et al. 2010).

Daraus lässt sich ersehen, dass die Forschungsergebnisse zur Bedeutung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten durchaus heterogen sind. Es bestätigt weiter, dass die immunologischen Vorgänge im Rahmen des Krankheitsbildes der Sepsis und auch des Sepsis-induzierten ANV noch sehr unvollständig verstanden sind, was die Einordnung der Ergebnisse erschwert. Es ist zu diesem Zeitpunkt zu

früh, die diagnostische und prognostische Aussage der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten eindeutig festzulegen.

4.7 Schlussfolgerung / Ausblick

Die Bedeutung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten im Geschehen des Sepsis-induzierten ANV kann zu diesem Zeitpunkt noch nicht abschließend beurteilt werden. CD4⁺ T-Lymphozyten spielen vor allem in der zellulären Immunantwort von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV eine zentrale Rolle. Diese zelluläre Immunantwort ist sehr spezifisch für den jeweiligen Patienten und unterliegt ständiger Veränderung (López-Hoyos et al. 2013), was die Feststellung von Gemeinsamkeiten im zeitlichen Verlauf der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten einzelner Patientenkollektive erschwert. Die Messung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten eröffnet aber neue Möglichkeiten, die die Suche nach einem prognostischen Marker im Rahmen eines Sepsis-induzierten ANV voranbringen könnte. Es sind weitere umfangreichere Untersuchungen notwendig, die Ergebnisse bestätigen und weitere Fragen zum Beispiel nach dem idealen Messzeitpunkt klären können.

5 Zusammenfassung

Das Ziel der durchgeführten Untersuchung war die Beantwortung der Frage, ob die Entwicklung eines ANV im Rahmen eines Organversagens des Patienten im septischen Schock mit der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten korreliert.

Die drei Ausgangsfragestellungen der Untersuchung lassen sich folgendermaßen beantworten:

1. Der zelluläre ATP-Gehalt der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV unterscheidet sich im zeitlichen Verlauf nicht signifikant von Patienten, die kein ANV entwickelt haben. Es konnte kein signifikanter Gruppen x Zeit-Effekt festgestellt werden ($p=0,93$).
2. Durch die Verlaufsbestimmung des ATP-Gehalts von CD4⁺ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten lässt sich ein Trend erkennen, der eine prognostische Aussage im Hinblick auf Patienten mit Sepsis-induziertem ANV zulässt. Bei einer Messung ca. 48 Stunden nach der stationären Aufnahme des Patienten im septischen Schock ist ein Unterschied im Hinblick auf die Nierenfunktion bei der Entlassung aus dem Krankenhaus zu sehen. Zu diesem Zeitpunkt haben Patienten, deren Nierenfunktion vollständig wiederhergestellt ist (Resitutio a.i.), tendenziell eine geringere ATP-Konzentration der CD4⁺ T-Lymphozyten ($p=0,0565$).
3. Der zelluläre ATP-Gehalt der CD4⁺ T-Lymphozyten von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV korreliert nicht signifikant mit einem durchschnittlich niedrigeren Wert abhängig vom Schweregrad des Nierenversagens ($p=0,15$).

Insgesamt unterscheidet sich der Zeitverlauf des zellulären ATP-Gehalts von CD4⁺ T-Lymphozyten in Bezug auf die drei AKIN-Stadien von Patienten im septischen Schock mit ANV nicht signifikant. Allerdings zeigt sich ein Trend, dass der zelluläre ATP-Gehalt von CD4⁺ T-Lymphozyten als prognostischer Marker für das renale Ergebnis der Patienten dienen kann.

Am ehesten lassen sich Patienten mit einem besseren klinischen Ergebnis (vollständig wiederhergestellte Nierenfunktion) nach einem Sepsis-induzierten ANV von denen mit einem schlechteren klinischen Ergebnis (Defektheilung der Niere, Dialysepflichtigkeit oder Tod) unterscheiden.

Niedrigere ATP-Konzentrationen von CD4⁺ T-Lymphozyten weisen vermutlich auf eine höhere Wahrscheinlichkeit hin, dass sich die Nierenfunktion von Patienten mit Sepsis-induziertem ANV wieder vollständig erholt. Die Unterschiede in den entsprechend der Nierenfunktion bei Entlassung eingeteilten Patientengruppen („vollständige Wiederherstellung der Nierenfunktion“, „Defektheilung der Niere“, „Dialysepflichtigkeit“, „verstorben“) befinden sich an der Schwelle zum Signifikanzniveau.

Bis zu diesem Zeitpunkt sind die Forschungsergebnisse zur Bedeutung der ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten zu heterogen, um eine eindeutige Funktion dieses Markers bestimmen zu können. Wenn sich unsere Untersuchungsergebnisse in umfangreicheren Studien bestätigen ließen, könnte die ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten in der Risikoprädiktion des Sepsis-induzierten ANV von Bedeutung sein.

6 Anhang

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Diagnosekriterien	11
Tabelle 2: Prüfplan	21
Tabelle 3: Material und Geräte.....	24
Tabelle 4: Herstellerangabe.....	30
Tabelle 5: Eckdaten des Patientenkollektivs	36
Tabelle 6: Demographische Daten	37
Tabelle 7: Erregernachweis und Komorbiditäten.....	38
Tabelle 8: Einsatz von Vasopressoren	38
Tabelle 9: Glomeruläre Filtrationsrate	41
Tabelle 10: Serumkreatininwerte	42
Tabelle 11: SAPS II bei Aufnahme und maximaler Wert.....	44
Tabelle 12: Anteil an Überlebenden.....	46
Tabelle 13: Klinisches Ergebnis bei Entlassung	47
Tabelle 14: ATP-Konzentration von CD4+ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten.....	50
Tabelle 15: ATP-Konzentration von CD4+ T-Lymphozyten nach Überleben	50
Tabelle 16: Gruppeneinteilung nach AKIN-Klassifikation	52
Tabelle 17: Einteilung nach Zeitpunkt	52
Tabelle 18: Gruppeneinteilung nach klinischem Ergebnis	54
Tabelle 19: Gruppeneinteilung nach ANV.....	55
Tabelle 20: Gruppeneinteilung nach AKIN-Klassifikation	57
Tabelle 21: Gruppeneinteilung nach renalem Ergebnis	58
Tabelle 22: Neue diagnostische Marker.....	73
Tabelle 23: Gesamtliste ATP-Konzentration zu drei Zeitpunkten.....	82

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: RIFLE- und AKIN-Klassifikation	4
Abbildung 2: Pathophysiologische Schlüsselreaktionen.....	8
Abbildung 3: Reaktionsgleichung	26
Abbildung 4: Testprinzip Biolumineszenz.....	27
Abbildung 5: vereinfachte MDRD-Formel zur Berechnung der eGFR.....	32
Abbildung 6: SAPS II Simplified Acute Physiology Score	33
Abbildung 7: Verteilung der Patienten.....	39
Abbildung 8: Verteilung der Patienten mit ANV.....	40
Abbildung 9: Glomeruläre Filtrationsrate bei Aufnahme	42
Abbildung 10: Serumkreatininwert zum Zeitpunkt 2- 48 Stunden	43
Abbildung 11: SAPS II bei Aufnahme.....	44
Abbildung 12: SAPS II maximaler Wert während ICU-Aufenthalt	45
Abbildung 13: Klinisches Ergebnis.....	47
Abbildung 14: Glomeruläre Filtrationsrate bei Entlassung.....	48
Abbildung 15: Nierenschädigung und ATP-Konzentration von CD4+ T-Lymphozyten	51
Abbildung 16: ATP-Konzentration von CD4+ T-Lymphozyten zu drei Zeitpunkten in Relation zur Nierenfunktion bei Entlassung	54
Abbildung 17: NGAL-Konzentration im Urin zu drei Zeitpunkten	55
Abbildung 18: Nierenschädigung und NGAL-Konzentration	56
Abbildung 19: NGAL-Konzentrationen zu drei Zeitpunkten in Relation zur Nierenfunktion bei Entlassung	58
Abbildung 20: Nierenschädigung und TNF- α -Konzentration	59
Abbildung 21: TNF- α -Konzentration zum Zeitpunkt 2	60
Abbildung 22: Nierenschädigung und IL-6-Konzentration	61

Patientennummer	ATP-Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 1	ATP-Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 2	ATP-Konzentration [ng/ml] Zeitpunkt 3
1	699	572	482
2	524	343	99
3	447	403	947
4	185	Messfehler	73
5	692	Messfehler	Messfehler
6	77	Verlegung	Verlegung
7	358	421	765
8	575	641	689
9	47	42	294
10	391	211	361
11	258	320	232
12	120	92	138
13	112	571	448
14	116	93	132
15	117	128	137
16	474	267	300
17	754	104	692
18	97	138	100
19	160	59	204
20	45	208	504
21	Messfehler	Messfehler	Messfehler
22	179	328	164

23	67	252	153
24	782	535	596
25	77	173	473
26	18	134	510
27	106	248	174
28	199	98	43
29	199	563	289
30	761	888	510
31	257	226	378
32	339	220	391
33	374	463	563

Tabelle 23: Gesamtliste ATP-Konzentration zu drei Zeitpunkten

Dargestellt ist die Gesamtliste der gemessenen ATP-Konzentration von CD4⁺ T-Lymphozyten [ng/ml] zu den Zeitpunkten 1, 2 und 3 aller in die Untersuchung aufgenommenen Patienten (n=33).

7 Literaturverzeichnis

(Akimoto et al. 2013)

= **Akimoto M, Yunoue S, Otsubo H, Yoshitama T, Kodama K, Matsushita K, Suruga Y, Kozako T, Toji S, Hashimoto S, Uozumi K, Matsuda T, Arima N (2013):**

Assessment of peripheral blood CD4+ adenosine triphosphate activity in patients with rheumatoid arthritis.

Mod Rheumatol 23 (1), 19-27

(Bagshaw et al. 2010)

= **Bagshaw SM, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H, D'amico G, Goldsmith D, Devarajan P, Bellomo R (2010):**

Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness.

Intensive Care Med 36 (3), 452–461

(Bajwa et al. 2009)

= **Bajwa A, Kinsey GR, Okusa MD (2009):**

Immune mechanisms and novel pharmacological therapies of acute kidney injury.

Curr Drug Targets 10 (12), 1196-1204

(Benad 2011)

= **Benad HM (2011):**

Pathophysiologie und Therapie des Akuten Nierenversagens.

Anästh Intensivmed 2011 (52), 757-770

(Benes et al. 2011)

= **Benes J, Chovjka J, Sykora R, Radej J, Krouzecky A, Novak I, Matejovic M (2011):**

Searching for mechanisms that matter in early septic acute kidney injury: an experimental study.

Crit Care 15 (5), R256

(Britz et al. 2002)

= **Britz J, Sottong P, Kowalski R (2002):**

In Vitro CMI: Rapid Assay for Measuring Cell-Mediated Immunity;

in Luminescence Biotechnology Instruments and Applications; hrsg. von Van Dyke K, Van Dyke C, Woodfork K; CRC Press LLC, 2002, 331-343

(Brivet et al. 1996)

= **Brivet FG, Kleinknecht DJ, Loirat P, Landais PJ (1996):**

Acute renal failure in intensive care units--causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality; a prospective, multicenter study. French Study Group on Acute Renal Failure.

Crit Care Med 24 (2), 192-198

(Brunkhorst et al. 2008)

= **Brunkhorst FM, Engel C, Bloss F, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weiler N, Moerer O, Gruendling M, Oppert M, Grond S et a. (2008):**

Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis.

N Engl J Med 358 (2), 125-139

(Burne et al. 2001)

= **Burne MJ, Daniels F, El Ghandour A, Mauiyyedi S, Colvin RB, O'Donnell MP, Rabb H (2001):**

Identification of the CD4(+) T cell as a major pathogenic factor in ischemic acute renal failure.

J Clin Invest 2001 (9), 1283-1290

(Case et al. 2013)

= **Case J, Khan S, Khalid R, Khan A (2013):**

Epidemiology of acute kidney injury in the intensive care unit.

Crit Care Res Pract 2013, 479730

(Chvojka et al. 2010)

= **Chvojka J, Sykora R, Karvunidis T, Radej J, Krouzecky A, Novak I, Matejovic M (2010):**

New Developments in Septic Acute Kidney Injury.

Physiol Res 59 (6), 859-869

(Clerico et al. 2012)

= **Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C (2012):**

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences.

Clin Chem Lab Med 50 (9), 1505-17

(Cruz et al. 2009)

= **Cruz DN, Ricci Z, Ronco C (2009):**

Clinical review: RIFLE and AKIN - time for reappraisal.

Crit Care 13 (3), 211

(Devarajan 2006)

= **Devarajan P (2006):**

Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury

J Am Soc Nephrol 17 (6), 1503-1520

(Ferguson et al. 2010)

= **Ferguson MA, Vaidya VS, Waikar SS, Collings FB, Sunderland KE, Gioules CJ, Bonventre JV (2010):**

Urinary liver-type fatty acid-binding protein predicts adverse outcomes in acute kidney injury

Kidney Int 77 (8), 708–714

(Friedewald und Rabb 2004)

= **Friedewald JJ, Rabb H (2004):**

Inflammatory cells in ischemic acute renal failure.

Kidney Int 66 (2), 486-491

(Hagel und Brunkhorst 2011)

= **Hagel S, Brunkhorst F (2011):**

Sepsis.

Intensivmed 2011 (48), 57-73

(Herget-Rosenthal et al. 2004)

= **Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, Philipp T, Kribben A (2004):**

Early detection of acute renal failure by serum cystatin C.

Kidney Int 66 (3), 1115–1122

(Honore et al. 2011)

= **Honore PM, Jacobs R, Joannes-Boyau O, De Regt J, Boer W, De Waele E, Collin V, Spapen HD (2011):**

Septic AKI in ICU patients. diagnosis, pathophysiology, and treatment type, dosing, and timing: a comprehensive review of recent and future developments.

Ann Intensive Care 1 (1), 32

(Hotchkiss et al. 1999)

= **Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE (1999):**

Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction.

Crit Care Med 27 (7), 1230–1251

(Hotchkiss et al. 2002)

= **Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Grayson MH, Osborne DF, Wagner TH, Cobb JP, Coopersmith C (2002):**

Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis.

J Immunol 168 (5), 2493–2500

(Huang und Don-Wauchope 2011)

= **Huang Y, Don-Wauchope AC (2011):**

The clinical utility of kidney injury molecule 1 in the prediction, diagnosis and prognosis of acute kidney injury: a systematic review.

Inflamm Allergy Drug Targets 10 (4), 260–271

(Hyojung et al. 2010)

= **Hyojung L, Dukhee N, Hwan-Suck C, Heekyung L, Min-Kyu S, Sung-Hoon K, Hyunsu B (2010):**

CD4⁺ CD25H⁺ regulatory T cells attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in mice.

Kidney International 78, 1100-1109

(Jacobs et al. 2011)

= **Jacobs R, Honore PM, Joannes-Boyau O, Boer W, De Regt J, De Waele E, Collin V, Spapen HD (2011):**

Septic acute kidney injury: the culprit is inflammatory apoptosis rather than ischemic necrosis.

Blood Purif 32 (4), 262-265

(Jörres D und Jörres A 2011)

= **Jörres D, Jörres A (2011):**

Akutes Nierenversagen; in Anästhesie und Begleiterkrankungen Perioperatives Management des kranken Patienten; hrsg. von Wappler F, Tonner P, Bürkle H u. a.; Thieme-Verlag, Stuttgart, 2011, 2. Auflage, 150-159

(Keller und Geberth 2007)

= **Keller CK, Geberth SK (2007):**

Akutes Nierenversagen in Praxis der Nephrologie; Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2007, 182-195

(Kielstein 2006)

= **Kielstein JT (2006):**

Akutes Nierenversagen in Dialysefibel, 3rd Edition; hrsg. von Schönweiß G; Abakiss Verlags-GmbH, Bad Kissingen 2006, 158-171

(Kim et al. 2013)

= **Kim MG, Koo TY, Yan JJ, Lee E, Han KH, Jeong JC, Ro H, Kim BS, Jo SK, Oh KH, Surh CD, Ahn C, Yang J (2013):**

IL-2/Anti-IL-2 Complex Attenuates Renal Ischemia-Reperfusion Injury through Expansion of Regulatory T Cells.

J Am Soc Nephrol 2013 Jul 5 (vorzeitige online Veröffentlichung)

(Kinsey et al. 2009)

= **Kinsey GR, Sharma R, Huang L, Li L, Vergis AL, Ye H, Ju ST, Okusa MD (2009):**

Regulatory T cells suppress innate immunity in kidney ischemia-reperfusion injury.

J Am Soc Nephrol 20 (8), 1744-1753

(Koziolk et al. 2012)

= **Koziolk MJ, Datta RR, Mattes H, Jung K, Heise D, Streich JH, Mühlhausen J, Mueller GA, Dihazi H (2012):**

Predictors of Renal Replacement Therapy in Acute Kidney Injury.

Nephron Extra 2012 (2), 247-255

(Lai et al. 2012)

= **Lai LW, Yong KC, Lien YH (2012):**

Pharmacologic recruitment of regulatory T cells as a therapy for ischemic acute kidney injury.

Kidney Int 81 (10), 983-992

(Langenberg et al. 2005)

= **Langenberg C, Bellomo R, May C, Wan L, Egi M, Morgera S (2005):**

Renal blood flow in sepsis.

Crit Care 9 (4), R363-74

(Lawrence et al. 2010)

= **Lawrence KL, White PH, Morris GP, Jennemann J, Phelan DL, Hotchkiss RS, Kollef MH (2010):**

CD4⁺ lymphocyte adenosine triphosphate determination in sepsis: a cohort study.

Crit Care 14, R110

(Le Gall et al. 1993)

= **Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F (1993):**

A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study.

JAMA 270 (24), 2957-63

(Lee et al. 2010)

= **Lee Hy, Nho D, Chung HS, Lee He, Shin MK, Kim SH, Bae H (2010):**

CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in mice.

Kidney International (2010) 78, 1100–1109

(Lee et al. 2012)

= **Lee SY, Lee YS, Choi HM, Ko YS, Lee HY, Jo SK, Cho WY, Kim HK (2012):**

Distinct pathophysiologic mechanisms of septic acute kidney injury: role of immune suppression and renal tubular cell apoptosis in murine model of septic acute kidney injury.

Crit Care Med 40 (11), 2997-3006

(Levey et al. 1999)

= **Levey AS, Bosch, JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D (1999):**

A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group.

Ann Intern Med 130 (6), 461-70

(Levy et al. 1996)

= **Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI (1996):**

The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis.

JAMA 275 (19), 1489-1494

(Lipcsey und Bellomo 2011)

= **Lipcsey M, Bellomo R (2011):**

Septic acute kidney injury: hemodynamic syndrome, inflammatory disorder, or both?

Crit Care 15 (6), 1008

(Liu et al. 2006)

= **Liu M, Chien CC, Burne-Taney M, Molls RR, Racusen LC, Colvin RB, Rabb H (2006):**

A Pathophysiologic Role for T Lymphocytes in Murine Acute Cisplatin Nephrotoxicity.

J Am Soc Nephrol (17), 765–774

(López-Hoyos et al. 2013)

= **López-Hoyos M, Rodrigo E, Arias M (2013):**

The usefulness of intracellular adenosine-5'-triphosphate measurement in CD4+ cells in renal transplant.

Nefrologia 33 (3), 381–388

(Lucena et al. 2013)

= **Lucena JF, Alegre F, Martinez-Urbistondo D, Landecho MF, Huerta A, Garcia-Mouriz A, Garcia N, Quiroga J (2013):**

Performance of SAPS II and SAPS 3 in intermediate care
plos one 8 (10), e77229

(Makris et al. 2009)

= **Makris K, Markou N, Evodia E, Dimopoulou E, Drakopoulos I, Ntetsika K, Rizos D, Baltopoulos G, Haliassos A (2009):**

Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as an early marker of acute kidney injury in critically ill multiple trauma patients.

Clin Chem Lab Med 47 (1), 79-82

(Matsui et al. 2012)

= **Matsui K, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yasuda T, Kimura K (2012):**

Usefulness of urinary biomarkers in early detection of acute kidney injury after cardiac surgery in adults.

Circ J 76 (1), 213–220

(Mehta et al. 2002)

= **Mehta RL, Pascual MT, Soroko S, Chertow GM (2002):**

Diuretics, mortality, and nonrecovery of renal function in acute renal failure.

JAMA 288 (20), 2547-2553

(Mehta et al. 2007)

= **Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A (2007):**

Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury.

Crit Care 11, R31

(Mishra et al. 2005)

= **Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P (2005):**

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery.

Lancet 365 (9466), 1231-1238

(Mori und Nakao 2007)

= **Mori K, Nakao K (2007):**

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage.

Kidney Int 71 (10), 967-970

(Neveu et al. 1996)

= **Neveu H, Kleinknecht D, Brivet F, Loirat P, Landai P (1996):**

Prognostic factors in acute renal failure due to sepsis. Results of a prospective multicentre study.

Nephrol Dial Transplant 11 (2), 293-299

(Oppert et al. 2007)

= **Oppert M, Engel C, Brunkhorst FM, Bogatsch H, Reinhart K, Frei U (2007):** Acute renal failure in patients with severe sepsis and septic shock--a significant independent risk factor for mortality: results from the German Prevalence Study Nephrology Dialysis.

Transplantation 23 (3), 904-909

(Rabb et al. 2000)

= **Rabb H, Daniels F, O'Donnell M, Haq M, Saba SR, Keane W, Tang WW (2000):**

Pathophysiological role of T lymphocytes in renal ischemia-reperfusion injury in mice.

Am J Physiol Renal Physiol 279 (3), F525-531

(Ramesh und Reeves 2002)

= **Ramesh G, Reeves WB (2002):**

TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity.

J Clin Invest 110 (6), 835–842

(Reinhart et al. 2010)

= **Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone HG, Bardutzky J, Dempfle CE, Forst H, Gastmeier P, Gerlach H, Gründling M, John S et al. (2010):**

Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis

1. Revision der S-2k Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI), Empfehlungen der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e. V.,

Verabschiedet von den Vorständen der beteiligten Fachgesellschaften am 15. Februar 2010

(Rodrigo et al. 2012)

= **Rodrigo E, López-Hoyos M, Corral M, Fábrega E, Fernández-Fresnedo G, San Segundo D, Piñera C, Arias M (2012):**

ImmuKnow as a diagnostic tool for predicting infection and acute rejection in adult liver transplant recipients: A systematic review and meta-analysis.

Liver Transpl 18 (10), 1244–1252

(Schrier und Wang 2004)

= **Schrier RW, Wang W (2004):**

Acute renal failure and sepsis.

N Engl J Med 351 (2), 159-169

(Serban et al. 2009)

= **Serban G, Whittaker V, Fan J, Liu Z, Manga K, Khan M, Kontogianni K, Padmanabhan A, Cohen D (2009):**

Significance of immune cell function monitoring in renal transplantation after Thymoglobulin induction therapy.

Hum Immunol 70 (11), 882-890

(Sieberth 2002)

= **Sieberth HG (2002):**

Geschichtlicher Überblick über das Akute Nierenversagen; in Die Intensivmedizin in Deutschland; hrsg. v. Lawin P, Opderbecke HW, Schuster HP; 1. Auflage; Springer Verlag, Berlin/Heidelberg 2002, 127-133

(Simmons et al. 2004)

= **Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, Chertow GM, Mehta RL, Paganini EP, Soroko S, Freedman S, Becker K, Spratt D, Shyr Y, Ikizler TA (2004):**

Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure.

Kidney Int 65 (4), 1357–1365

(Singh und Evans 2006)

= **Singh S, Evans TW (2006):**

Organ dysfunction during sepsis.

Intensive Care Med 32 (3), 349-360

(Uchino et al. 2005)

= **Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, Bouman C, Macedo E et al. (2005):**

Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study.

JAMA 294 (7), 813-818

(van Deursen et al. 2014)

= **van Deursen VM, Damman K, Voors AA, van der Wal MH, Jaarsma T, van Veldhuisen DJ, Hillege HL (2014):**

Prognostic value of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin for mortality in patients with heart failure.

Circ Heart Fail 7 (1), 35-42

(Vanmassenhove et al. 2013)

= **Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, van Biesen W (2013):**

Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature.

Nephrol Dial Transplant 28 (2), 254–273

(Wang et al. 2013)

= **Wang XZ, Jin ZK, Tian XH, Xue WJ, Tian PX, Ding XM, Zheng J, Li Y, Jing X, Luo ZZ (2013):**

Increased intracellular adenosine triphosphate level as an index to predict acute rejection in kidney transplant recipients.

Transpl Immunol 2013 Nov 8 (vorzeitige online Veröffentlichung)

(Yokota et al. 2002)

= **Yokota N, Daniels F, Crosson J, Rabb H (2002):**

Protective effect of T cell depletion in murine renal ischemia-reperfusion injury.

Transplantation 74 (6), 759–763

(Zarjou und Agarwal 2011)

= **Zarjou A, Agarwal A. (2011):**

Sepsis and Acute Kidney Injury.

J Am Soc Nephrol 22, 999-1006 (Abbildung S. 1000)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Gerhard Anton Müller danke ich für die Möglichkeit, in der Abteilung für Nephrologie des Universitätsklinikums Göttingen zu promovieren.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Michael Koziol für die Überlassung dieses spannenden Themas und für die hervorragende Betreuung. Trotz seines hohen beruflichen Engagements brachte er stets Zeit für mich auf, und seine hilfreiche Kritik hat in besonderem Maße zur Fertigstellung dieser Doktorarbeit beigetragen.

Ebenso möchte ich Herrn PD Dr. Daniel Patschan, Dr. Malte Heeg und PD Dr. Gunnar Brandhorst für ihre wertvollen Ratschläge in der Anfangsphase sowie die Unterstützung beim Einschluss der Patienten herzlich danken.

Den sehr hilfsbereiten Schwestern und Pflegeern der Stationen 1021 und 1022 sei an dieser Stelle für ihre Unterstützung gedankt, ohne sie wäre ich wohl des Öfteren verzweifelt.

Ein großes Dankeschön richtet sich an die Mitarbeiter des Studienlabors des Instituts für Klinische Chemie sowie der Klinik für Nephrologie und Rheumatologie. Im Besonderen danke ich Frau Jutta Engelmayer und Christa Henze für die geduldige Anleitung und ihre Hilfsbereitschaft.

Simon Schneider danke ich herzlich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Meiner Schwester Hanna danke ich für ihr unermüdliches Korrekturlesen.

Lebenslauf

Mein Name ist Maria Brier. Ich wohne in der Bürgerstraße 14 in 37073 Göttingen.

Ich wurde am 12.10.1988 in Schwalmstadt geboren, bin ledig und habe keine Kinder.

Meine Schulausbildung absolvierte ich bis 2005 an der Grundschule sowie an der kooperativen Gesamtschule (Gymnasialzweig) in Borken (Hessen). Anschließend besuchte ich die gymnasiale Oberstufe der Ursulinenschule in Fritzlar und schloss meine schulische Ausbildung 2008 mit dem Abitur und der Durchschnittsnote 1,2 ab.

Im Anschluss daran absolvierte ich ein halbjähriges Praktikum in dem sozialmissionarischen Projekt „CENA“ in São Paulo. Für weitere 6 Monate habe ich ein „freiwilliges soziales Jahr“ im Bund freier evangelischer Gemeinden in Deutschland gemacht. Eingesetzt war ich im ambulanten Pflegedienst „Bethanien mobil“ in Solingen.

Seit Oktober 2009 studiere ich an der Georg-August-Universität Göttingen Humanmedizin und war bis Dezember 2011 Stipendiatin der Studienstiftung des Deutschen Volkes. Mein Studium werde ich voraussichtlich im Jahr 2015 abschließen.