

Aus der Klinik für Anästhesiologie
(Prof. Dr. med. K. Meissner)
der medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Bakterielle Translokation beim
kritisch kranken Patienten mit
aneurysmatischer
Subarachnoidalblutung**

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von

Silvia Flachs Nóbrega (geb. Schultze)

aus

Hannover

Göttingen 2023

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Referent/in PD Dr. med. J. Schäper

Ko-Referent/in: Prof. Dr. med. D.Mielke

Drittreferent/in:

Datum der mündlichen Prüfung: 22.02.2023

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel "Bakterielle Translokation beim kritisch kranken Patienten mit aneurysmatischer Subarachnoidalblutung" eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 31.01.2023

.....

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Pathogenese der Sepsis.....	1
1.2 Bakterielle Translokation.....	4
1.3 Intestinale Permeabilität	6
1.4 Spontane aneurysmatische Subarachnoidalblutung.....	9
1.5 Ziele der Arbeit.....	12
2 Material und Methoden	13
2.1 Studiendesign	13
2.1.1 Patienten der Studie.....	13
2.1.2 Ein- bzw. Ausschlusskriterien.....	13
2.1.3 Ethik.....	14
2.2 Studienablauf.....	15
2.2.1 Erfassung klinischer Daten und Einteilung der Patienten.....	15
2.3 Zielparameter	17
2.3.1 Erfassung des Schweregrades der Infektion.....	17
2.3.2 Primäre Zielgrößen.....	17
2.3.2.1 Bakterielle DNA-Konzentration im Plasma.....	17
2.3.3 Sekundäre Zielgrößen.....	18
2.3.3.1 APACHE II.....	18
2.3.3.2 SAPS II.....	20
2.3.3.3 SOFA-Score.....	20
2.3.3.4 Intraabdomineller Druck.....	21
2.3.3.5 Insulinbedarf.....	21
2.3.3.6 Gastrales Residualvolumen.....	21
2.3.3.7 iFABP-Konzentration im Urin.....	21
2.3.3.8 Claudin-3-Konzentration im Urin.....	22
2.4 Ablauf der Probenentnahme.....	22
2.4.1 Blut- und Urinentnahmen.....	22
2.5 Materialien.....	24
2.6 Statistische Auswertung.....	24

3	Ergebnisse.....	25
3.1	Patienten	25
3.2	Sepsis	27
3.2.1	SOFA-Score in Patienten mit und ohne Sepsis.....	28
3.2.2	Intraabdomineller Druck in Patienten mit Sepsis und ohne Sepsis.....	29
3.2.3	Insulinbedarf in Patienten mit und ohne Sepsis.....	30
3.2.4	Gastrales Residualvolumen in Patienten mit und ohne Sepsis.....	31
3.3	Glykoprotein sCD14.....	32
3.3.1	sCD14-Plasmakonzentration in Patienten mit und ohne Sepsis.....	32
3.3.2	Kumulative sCD14-Plasmakonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis.....	33
3.3.3	sCD14 bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation.....	34
3.3.4	sCD14-Plasmakonzentration in Patienten mit und ohne Sedierung.....	35
3.4	Biomarker einer erhöhten intestinalen epithelialen Permeabilität.....	36
3.4.1	Claudin-3-Urinkonzentration in Patienten mit und ohne Sepsis.....	36
3.4.2	Claudin-3 in Patienten mit und ohne bakterielle Translokation.....	37
3.4.3	Claudin-3-Urinkonzentration in Patienten mit und ohne Sedierung.....	38
3.4.4	iFABP-Urinkonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis.....	39
3.4.5	iFABP von Patienten mit und ohne bakterielle Translokation.....	40
3.4.6	iFABP-Urinkonzentration bei Patienten mit und ohne Sedierung	41
4	Diskussion.....	42
4.1	Studienergebnisse	42
4.1.1	Bakterielle Translokation und Sepsis	42
4.1.2	Scoring-Systeme.....	45
4.1.3	Intraabdomineller Druck.....	46
4.1.4	Insulinbedarf.....	47
4.1.5	Gastrales Residualvolumen.....	48
4.1.6	Glykoprotein sCD14.....	49
4.1.7	Intestinale epitheliale Permeabilität.....	51
5	Zusammenfassung.....	54
6	Literaturverzeichnis.....	56

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Endotoxine - Wirkung und Nachweisverfahren.....	8
Abbildung 2: Bakterielle Translokation bei Patienten mit Sepsis und ohne Sepsis.....	27
Abbildung 3: SOFA-Score in Patienten mit und ohne Sepsis.....	28
Abbildung 4: Intraabdomineller Druck bei Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis.....	29
Abbildung 5: Insulin-Bedarf (IE/Tag) bei Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis.....	30
Abbildung 6: Gastrales Residualvolumen in Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis.....	31
Abbildung 7: sCD14 in Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis.....	32
Abbildung 8: Kumulative sCD14-Plasmakonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis.....	33
Abbildung 9: sCD14 bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation.....	34
Abbildung 10: sCD14 in Patienten mit und ohne Sedierung.....	35
Abbildung 11: Claudin-3 in Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis.....	36
Abbildung 12: Claudin-3 in Patienten mit SAB mit und ohne bakterielle Translokation.....	37
Abbildung 13: Claudin-3 in Patienten mit und ohne Sedierung.....	38
Abbildung 14: iFABP bei Patienten mit und ohne Sepsis.....	39
Abbildung 15: iFABP von Patienten mit SAB mit und ohne bakterielle Translokation.....	40
Abbildung 16: iFABP-Urinkonzentration bei Patienten mit SAB mit und ohne Sedierung.....	41

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Erhebung von Daten nach Organsystem	16
Tabelle 2: APACHE-II-Score.....	19
Tabelle 3: SOFA-Score.....	20
Tabelle 4: Materialien für Blut- und Urinentnahmen.....	24
Tabelle 5: Demographie und klinische Zusammenfassung.....	25
Tabelle 6: Differenzierte Darstellung der bakteriellen Translokation.....	26

Abkürzungsverzeichnis

APACHE	<i>acute physiology and chronic health evaluation</i>
ARDS	<i>acute respiratory distress syndrome</i>
BMI	<i>body mass index</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CRF	Case Report Form
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
d	<i>day</i>
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
GCS	<i>glasgow coma scale</i>
GIF	<i>gastrointestinal failure score</i>
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
iFABP	<i>intestinal fatty acid binding protein</i>
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
ITS	Intensivstation
KHK	Koronare Herzkrankheit
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid
MOV	Multiorganversagen
NYHA	New York Heart Association
PAF	<i>platelet-activating factor</i>
RASS	<i>richmond agitation sedation scale</i>
SAB	Subarachnoidalblutung
SAPS	<i>simplified acute physiology score</i>

sCD	<i>soluble cluster of differentiation</i>
SIRS	<i>systemic inflammatory response syndrome</i>
SOFA	<i>sequential organ failure</i>
TJ	<i>tight junctions</i>
TNF	Tumornekrosefaktor
WFNS	World Federation of Neurological Surgeons

1 Einleitung

Die Sepsis ist der häufigste Grund für das Versterben kritisch kranker Patienten. Die Pathogenese der Sepsis ist daher von zentraler Bedeutung, um Therapieansätze für dieses häufige Krankheitsbild zu finden. Dabei spielt eine möglichst strenge Definition des zu untersuchenden Patientenkollektives und der Zeitpunkt für das Auftreten von Organdysfunktionen bzw. Organversagen im intensivmedizinischen Verlauf eine wichtige Rolle, um Rückschlüsse auf eine Kausalität von Einflussfaktoren ziehen zu können.

Eine zentrale Rolle in der Pathogenese des septischen Multiorganversagens wird einer gestörten epithelialen Darmbarriere mit konsekutiver bakterieller Translokation und Endotoxinämie zugesprochen.

Trotz einer großen Anzahl von experimentellen und klinischen Studien, sind die Daten hinsichtlich der kausalen Beziehung zwischen epithelialer Barrierestörung, bakterieller Translokation und dem prognostischen Wert für das Überleben eines kritisch kranken Patienten in der bisherigen Literatur gering und inhomogen. Diese Studie wurde durchgeführt, um mit modernen Analyseverfahren die Vorgänge am Darmepithel kritisch kranker Patienten neu zu bewerten und eine Translokation, also ein Übertritt von Bakterien bzw. deren Bestandteilen vom Darmlumen in den systemischen Kreislauf als Prädiktor für ein Organversagen zu prüfen. Dafür wurde ein Kollektiv mit Patienten gewählt, welche eine spontane aneurysmatische Subarachnoidalblutung (SAB) erlitten hatten.

1.1 Pathogenese der Sepsis

Patienten mit einer SAB sind kritisch kranke Patienten, die intensivmedizinisch überwacht werden müssen und je nach Krankheitsschwere für einen Zeitraum von Tagen aufgrund neurologischer Defizite beatmet werden müssen, sedieren-

de Medikamente erhalten, einer Vasopressortherapie bedürfen und häufig eine systemische inflammatorische Reaktionen zeigen (Gacouin et al. 2010, Reintam Blaser et al. 2015).

Grundsätzlich resultiert die systemische inflammatorische Reaktion aus einer Aktivierung von dendritischen Zellen, die wiederum durch Bakterien, sonstige Mikroorganismen und Exo- oder Endotoxine aktiviert werden. Die Stimulierung des Komplementsystems, der intrinsischen und extrinsischen Gerinnung und des fibrinolytischen Systems führt dabei zur überproportionalen Produktion inflammatorischer Zytokinen.

Zytokine nehmen die Hauptrolle in der inflammatorischen Antwort des Organismus auf eine Infektion ein. Sie dienen als Mediatoren für Aktivierung von Zellen und werden in proinflammatorische Zytokine, wie Tumornekrosefaktoren (TNF), Interferone, Interleukine(IL)-1, IL-6, IL-8 und in antiinflammatorische Zytokine, wie IL-10 unterteilt.

Bei Freisetzung sehr vieler proinflammatorischer Mediatoren kann es zu einem Übertritt ins Blut und einer generalisierten Entzündungsreaktion kommen, dem *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS), mit den Folgen einer Vasodilatation und einer erhöhten mikrovaskulären Durchlässigkeit. Gründe hierfür sind zum einem die Wirkung des vasodilatierenden wirkenden Histamins und zum anderen eine durch TNF induzierte Freisetzung von Stickstoffmonoxid (Wang et al. 2001). Das Stickstoffmonoxid, welches in den Gefäßendothelien über eine Stimulierung der Stickstoffmonoxidsynthetase produziert wird, hat ausgesprochene vasodilatorische Eigenschaften, verursacht somit eine arterielle Hypotension und somit zeigen sich die charakteristischen Merkmale eines septischen Schockes (Landry et al. 2001). Die dadurch resultierende Vasodilatation verursacht eine Verringerung der kardialen Vorlast und überdies eine Umverteilung des Herzminutenvolumens auf lebensnotwendige Organe wie Herz, Gehirn und Lunge. Es kommt im Rahmen dieser Umverteilung zu einer verminderten Durchblutung der viszeralen Organe und somit zur einer Gewebshypoxie. Daraus entsteht eine Azidose und ein Anstieg der Lactatkonzentration (Singer et al. 2016).

Da das Splanchnikusgebiet mit einem Anteil von 35% des Herzzeitvolumens gut durchblutet wird und damit auch einen hohen Sauerstoffbedarf aufweist, ist der Gastrointestinaltrakt besonders anfällig für die schädlichen Wirkungen der verminderten Perfusion der Darmkapillare. Der Grund der Mikrozirkulationsstörung liegt darin, dass bei Kontaktaufnahme mit der Endotheloberfläche Leukozyten aktiviert werden, die dann zytotoxische Substanzen freisetzen und zu einer weiteren Funktionsstörung der Endothelzellen sowie die Ausbildung eines Kapillarlecks führen können (Clarksen et al. 1960). Anschließend tritt intravasale Flüssigkeit in das Interstitium ein und es bilden sich Ödeme aus. Schließlich führt die massive Verschiebung zu einem intravasalen Volumenmangel.

Somit führt eine gestörte Mikrozirkulation zu einer Einschränkung der epithelialen Barriere des Darms und erleichtert daher die Passage von im Darmlumen herrschenden Bakterien und Toxine in das systemische Kreislaufsystem.

Zweifelsfrei konnten in verschiedenen Studien bezüglich zur Pathogenese der Sepsis nachgewiesen werden, dass Störungen der Mikrozirkulation und die daraus folgende Minderperfusion eine Klärung in der Manifestation der Organdysfunktion bis hin zum Multiorganversagen (MOV) ist (Vollmer et al. 2011).

Da in der Sepsis die Anzahl der perfundierten Kapillaren aufgrund eines Endothelschadens und Bildung von Mikrothromben vermindert ist, entsteht in den verschiedenen Organen ein arteriovenöser Shunt. Durch die Umverteilung der Perfusion kommt es zu einer Mangelversorgung von Sauerstoff der betreffenden Zellen. Aufgrund eines Ungleichgewichtes von Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch und einer verminderten Perfusion entwickelt sich eine Hypoxie. Die daraus entstehende Ischämie ist initial an den Spitzen der Darmzotten nachweisbar. Im Verlauf können sich Nekrosen entwickeln (Bounous et al. 1982). Über die Membranschädigung, die zu einer erhöhten Permeabilität der Mukosa führt, können Bakterien passieren und die bakterielle Translokation von Endotoxinen erleichtern.

Endotoxine sind Lipopolysaccharide (LPS) und Bestandteile der äußeren Zellmembran von gramnegativen Bakterien, welche bei Zerstörung der intestinalen Mukosa freigesetzt werden. Die LPS werden nur dann aktiv, wenn sie an einem Serumprotein, dem LPS-Bindungsprotein (LBP) gebunden werden. Dieser Komplex wird dann von dem Glykoprotein *cluster of differentiation-14* (CD-14) erkannt. CD-14 wird hauptsächlich von Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten gebildet. Diese formieren zusammen mit dem LPS-LBP-Komplex den Lipopolysaccharid-Rezeptor und setzen daraufhin Zytokine wie TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 sowie den *platelet-activating factor* (PAF) frei (Yu et al. 1995).

Üblicherweise werden unter physiologischen Umständen nur geringe Mengen von Endotoxinen über das intestinale Epithel aufgenommen. Bei einer systemischen Inflammation kommt es vermutlich zu einer signifikanten bakteriellen Translokation von Endotoxinen, wodurch die Gerinnungs-, Komplement- und Kininkaskaden aktiviert werden können. Ferner kann durch Freisetzung inflammatorischer Mediatoren eine Entzündungskaskade initiiert werden, die bis zum MOV führen kann. Neben einem kardiovaskulären Versagen entwickeln sich dann vielfältige Organfunktionsstörungen an Niere, Gehirn, Lunge und Leber.

1.2 Bakterielle Translokation

Der Gastrointestinaltrakt beherbergt massenhaft Bakterien (ca. 10^{12}), die ein komplexes Ökosystem von aeroben und anaeroben Mikroorganismen bilden und somit eine potentielle interne Infektionsquelle darstellen. Die Idee, dass natürlich vorkommende aerobe und anaerobe Bakterien translozieren und die Entzündungs- und Mediatorkaskade aktivieren, welches eine Sepsis verursacht, wurde unter anderem in einer Studie von Lemaire (1997) postuliert. Der häufigste Infektionsherd der Sepsis sind die Atemwege, aber auch intraabdominelle Abszesse, eine Peritonitis, eine nekrotisierende Pankreatitis, Nahtinsuffizienzen oder

Katheterinfektionen können eine Sepsis hervorrufen (Engel et al. 2007). Dennoch können auch bei einer intakten Darmbarriere Bakterien die epitheliale Mukosa passieren, die dann über die Lymphgefäße zu den extraintestinalen Stellen, wie Lymphknoten, Leber, Milz und Niere gelangen und dort phagozytiert werden. Somit wird die bakterielle Translokation als Durchtritt von lebensfähigen Bakterien aus dem gastrointestinalen Trakt zu den extraintestinalen Stellen definiert. In unterschiedlichen experimentellen Tierversuchen konnten bei einer erhöhten Permeabilität der Darmschleimhautbarriere und defizitären Immunstatus eine bakterielle Translokation in mesenterialen Lymphknoten nachgewiesen werden (Berg et al. 1999). Ob die bakterielle Translokation ein wichtiges pathophysiologisches Ereignis bei Menschen oder einfach nur ein Phänomen einer schweren Erkrankung ist, bleibt aufgrund mangelnder Datenlage noch ungewiss (Fukushima et al. 1998).

Bei einer umfangreichen, retrospektiven Studie konnte bei Patienten nach elektiven und nicht-elektiven abdominalchirurgischen Operationen nachgewiesen werden, dass Patienten mit einer bakteriellen Translokation häufiger eine postoperative Sepsis erlitten als Patienten ohne Bakteriennachweis (MacFie et al. 2006). Diese Patientengruppe bestand aus Patienten mit Darmkrebs, die sich elektiven Operationen unterzogen und bei denen ein schwerer prolongierter Krankheitsverlauf unwahrscheinlich war. Auch unter den Bedingungen einer intrakraniellen Blutung konnte eine Erhöhung der parazellulären epithelialen Permeabilität ohne direkten bakteriellen Nachweis gezeigt werden (Hernandez et al. 2007).

In einer weiteren Untersuchung wurde eine Korrelation zwischen epithelialer Permeabilität von oral zugeführter Lactulose bei Aufnahme auf die Intensivstation und die Schwere eines MOVs nachgewiesen (Doig et al. 1998), jedoch gab es dazu keine validen Aufzeichnungen bei Patienten mit schweren Traumata oder einem hämorrhagischen Schock (Roumen et al. 1993).

Die Anwendung von differentiellen Zucker-Absorptionstests zur Beurteilung der Korrelation von gastrointestinaler Permeabilität und Schwere der Erkrankung

konnte als unzuverlässig belegt werden (Oudemans-von Straaten et al. 2002). Die Studie von Besselink (2009) jedoch zeigte, dass unter Verwendung von Polyethylenglykol bei Patienten mit einer schweren akuten Pankreatitis eine positive Korrelation zwischen Enterozytenschaden und der Schwere der Erkrankung besteht.

Klinische Symptome einer systemischen Inflammation wie Leukozytose, Tachypnoe, Tachykardie und Anstieg der Körpertemperatur sind nicht sehr spezifisch. Daher wurden in den letzten Jahren in vielen experimentellen und klinischen Studien bereits einige molekularbiologische Parameter hinsichtlich von Nachweisen einer kausalen Beziehung zwischen epithelialer Barrierestörung, bakterieller Translokation und Schweregrad des Krankheitsverlaufes bei kritisch kranken Patienten untersucht. Es zeigte sich, dass der molekularbiologische Nachweis von spezifischer oder unspezifischer ribosomaler bakterieller Desoxyribonukleinsäure (DNA) eine sensitive Methode darstellt, um eine bakterielle Translokation nachzuweisen (Ono et al. 2005). Die Anwendung dieser sensitiven Methode soll genutzt werden, um die bakterielle Translokation von *Enterococcus species* und *Bacterioides species* zu quantifizieren. Ob eine Korrelation zwischen dem Nachweis der selektiven Darmbakterien wie *Enterococcus species* und *Bacterioides species* sowie den Markern der epithelialen Permeabilitätserhöhung, systemischen Inflammation und einer drohenden Organdysfunktion besteht, ist noch wenig bekannt.

Insofern ist es sowohl für neue Therapieansätze und Präventionsmaßnahmen als auch für neue Erkenntnisse der Vorgänge am Darmepithel relevant, Parameter drohender Organdysfunktionen und Sepsis bei kritisch kranken Patienten, wie z. B. Patienten mit einer SAB, in der Intensivmedizin zu etablieren.

1.3 Intestinale Permeabilität

Anatomisch besteht die epitheliale Darmwand aus einer luminalen Schicht, dem funktionellen Außenraum und aus einer dünnen Lage interstitiellem Bindegewebe, dem Innenraum. Dieses Darmepithel resorbiert zum einen wichtige Nähr-

stoffe und zum anderen dient sie als Schutzbarriere gegen Toxine und wird daher als intestinale Barriere bezeichnet.

Die intakte intestinale Schranke setzt sich aus einer parazellulären und transzellulären Barriere zusammen. Neben der apikalen und basolateralen Zellmembran, die als transzelluläre Barriere dient, spielen auch die Zell-Zell-Kontakte, die *tight junctions* (TJ), als parazelluläre Barriere eine wichtige Rolle für die Schutzfunktion des intestinalen Epithels. Durch diesen speziellen Aufbau der Epithelschicht wird zum einen eine massive bakterielle Translokation und zum anderen der transepitheliale Transport von Makromolekülen sowie LPS verhindert. Zum integralen Bestandteil der transmembranösen TJ gehört das Transportprotein Claudin, zugehörig einer Gruppe von bisher 27 beschriebenen kleine Transmembranproteine mit einem Molekulargewicht von 20 bis 27 kDa. Während die meisten Claudine gewebspezifisch exprimiert werden, ist Claudin-3 ein ubiquitäres TJ-Protein, das in Epithelien von Darm, Niere, Leber, Haut, Lunge und Endothel gebildet wird. Claudin-3 ist ein barrierebildendes TJ-Protein und ist möglicherweise für die Dichtigkeit gegen Ionen und ungeladene größere Solute verantwortlich (Milatz et al. 2010).

Da Claudin-3 das essentielle Versiegelungsprotein sich bei ischämischer Schädigung der Darmmukosa aus der TJ löst und im Urin freigesetzt wird, wurde es in dieser Studie als Marker der erhöhten Permeabilität im Urin quantifiziert. Neben Claudin-3 wurde das intrazelluläre Protein *intestinal fatty acid binding protein* (iFABP), welches eine hohe Gewebsspezifität aufweist, im Urin bestimmt. Intestinales-FABP kann genauso wie Claudin-3 erst nach einer Schädigung von intestinalen Epithelzellen nachgewiesen werden (Derikx et al. 2008).

Im Falle einer gestörten epithelialen Barriere, stellt sich dieser Aufbau der intestinalen Barriere als Risikofaktor dar, da sich im Darmlumen ca. 400 verschiedene Arten von Bakterien und Pilze befinden und es bei Übertritt dieser in das Kreislaufsystem zu einer entsprechenden Mediatorenantwort kommen kann. Zudem hat der Darm eine Oberfläche von 200 m² (200 mal größer als die der Haut) und

muss somit kontinuierlich ein Gleichgewicht zwischen essentieller Aufnahme von Nährstoffen und der Verhinderung einer Passage von pathogenen Mikroorganismen halten (Evaldson et al. 1982).

Dieser Zustand der epithelialen Barrierestörung liegt vermutlich bei kritisch kranken Patienten vor und bedingt eine bakterielle Translokation. Folglich kann jegliche Gewebsverletzung des Darmepithels wie beispielweise bei Polytraumen, Verbrennungen, entzündliche Darmerkrankungen und operative Traumata zunächst eine lokale inflammatorische Reaktion verursachen. Diese Verletzungen führen im Verlauf nicht nur zu einer Schwächung des Immunsystems, sondern auch zu einer Erhöhung der parazellulären epithelialen Darmpermeabilität. Somit kann sich die zunächst initiale lokale Entzündungsantwort auf andere Organe ausdehnen und eine generalisierte Entzündungsreaktion auslösen (Ambrose et al. 1984, Deitch et al. 1990, Sedman et al. 1994).

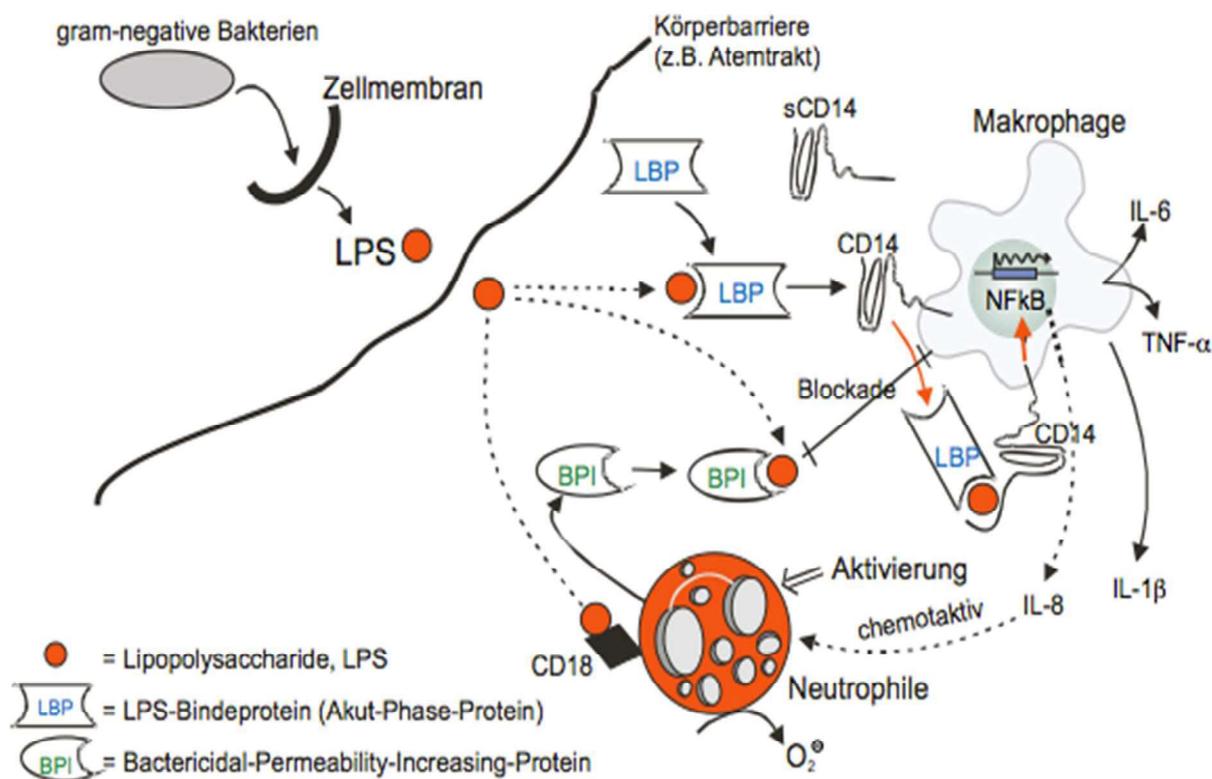


ABBILDUNG 1: Endotoxine - Wirkung und Nachweisverfahren (Verena Liebers und Monika Raulf-Heimsoth 2003, mit freundlicher Genehmigung des Instituts der Ruhr-Universität Bochum)

1.4 Spontane aneurysmatische Subarachnoidalblutung

Eine akute nicht traumatische SAB ist eine intrakranielle spontane Blutung, die im Verlauf des intensivmedizinischen Aufenthaltes gehäuft mit einem schweren und prolongierten Krankheitsverlauf einhergeht. Die jährliche Inzidenz der SAB in Mitteleuropa liegt bei 7 bis 10/100.000 Einwohner (Schmieder et al. 2007). Dies entspricht einer Neuerkrankungszahl von ca. 6.000 bis 9.000 Patienten pro Jahr in Deutschland. Etwa 40 Prozent der Erkrankten versterben innerhalb der ersten 30 Tage nach dem Ereignis. Die Mortalität bei Rezidivblutungen beträgt 50 bis 70 Prozent (Ingall et al. 2000).

Die akute nicht traumatische SAB ist eine Form der Hirnblutung, die sich im Subarachnoidalraum ausbreitet. Dieser Raum liegt zwischen der weichen Hirnhaut (Pia mater) und der Spinnwebhaut (Arachnoidea) und ist normalerweise mit Hirnwasser gefüllt.

Die Hauptursache ist meist eine Ruptur eines Aneurysmas an einer hirnversorgenden Arterie (75 bis 80%) (van Gijn et al. 2001) seltener eine Blutung aus einer arterio-venösen-Malformation (4 bis 5%). In ungefähr 14 bis 22% der Fälle wird keine Ursache gefunden (Adams und Gordan 1991). Am häufigsten tritt eine nichttraumatische SAB im 4. bis 6. Lebensjahrzehnt auf, Frauen sind im Mittel häufiger betroffen als Männer (Ingall et al. 2000).

Genetische Dispositionen wie das Ehlers-Danlos-Syndrom und das Marfan-Syndrom stellen Risikofaktoren für das Erleiden einer nichttraumatischen SAB dar. Weitere Risikofaktoren sind ein arterieller Hypertonus, Nikotinabusus, Alkoholkonsum, erstgradige Verwandte mit einer SAB und die Einnahme von oralen Kontrazeptiva (van Gijn et al. 2001).

Häufig manifestiert sich klinisch eine SAB mit eintretendem stärksten „Vernichtungskopfschmerz“, der mit Nackensteifigkeit, Übelkeit mit Erbrechen, retinaler Einblutung, fokalneurologischen Ausfällen, generalisiertem Krampfanfall und Bewusstlosigkeit bis Koma einhergehen kann (Schmieder et al. 2007). Auch

elektrokardiographische Veränderungen treten bei 90% der Patienten innerhalb der ersten 48 Stunden auf (Di Pasquale et al. 1987).

Die Schwere der neurologischen Ausfälle wurde lange in den Einteilungen nach Hunt & Hess klassifiziert (Hunt und Hess 1968). Zwei Jahrzehnte nach Hunt & Hess hat sich zunehmend die World Federation of Neurological Surgeons (WFNS)-Grading-Skala etabliert (Teasdale et al. 1988).

Die Diagnose der nichttraumatischen SAB wird durch ein cerebrales Computertomogramm (CT) objektiviert und ermöglicht zu 93% den Nachweis einer SAB in den ersten 24 Stunden (Schmieder et al. 2007). Nachfolgend der Diagnosesicherung wird zur genauen Lokalisation der Ursache des Aneurysmas eine 3D-CT-Angiographie durchgeführt. Bei Bedarf kann in der gleichen Sitzung die endovaskuläre Versorgung der Blutungsquelle erfolgen. Wenn der klinische Verdacht einer SAB bei negativem cerebralen CT besteht, sollte zur Diagnosesicherung eine Liquorpunktion durchgeführt werden (Schmieder et al. 2007). Tägliche transkranielle Doppler-Sonographien zum Ausschluss eines Vasospasmus sind obligat.

Patienten mit einer SAB sollten auf einer Intensivstation behandelt werden, um SAB-typische Komplikationen rechtzeitig zu erkennen und neuroprotektive Therapien in die Wege zu leiten und zu überwachen. Gesicherte Atemwege, Monitoring der Vitalfunktion und eine kontinuierliche neurologische Überwachung auf einer Intensivstation sollten vorhanden sein (Bederson et al. 2009).

Systolische Blutdruckspitzen mit Werten über 160 mmHg sollten aufgrund des hohen Risikos einer Nachblutung vermieden werden. Die Wahrscheinlichkeit des Eintritts einer solchen Nachblutung wird in einer Studie von Brisman (2006) mit 7 bis 20% angegeben.

Basismaßnahmen wie Bettruhe, Vermeidung von Hyperglykämie, Hypoglykämie, Hyponatriämie und Fieber dienen der Neuroprotektion und werden daher zur Einhaltung empfohlen (Schmieder et al. 2007).

Innerhalb der ersten 72 Stunden nach Blutungsereignis, sollte das Aneurysma operativ oder endovaskulär versorgt werden (Bederson et al. 2009). Welches Verfahren, ob geclippt oder gecoilt werden soll, hängt vom Alter des Patienten, der Schwere der SAB, der Lage des Aneurysmas, der Konfiguration des Halses und ob ein erfahrenes neurochirurgisches und neuroradiologisches Team zur Verfügung steht, ab (Schmieder et al. 2007).

Der cerebrale Vasospasmus ist eine Komplikation, die in der Regel zwischen dem vierten und zehnten Tag nach der Blutung auftritt und zu einer symptomatischen Hirnischämie führen kann. Die prophylaktische Therapie des Vasospasmus hat sich mit einer oralen Applikation des Calciumantagonisten Nimodipin bewährt (Feign et al. 1998, Rinkel et al. 2005, Dorhout Mees et al. 2007).

Während des Aufenthaltes auf der Intensivstation entwickeln diese Patienten bei zunehmender Liegezeit medizinische Komplikationen, die für mehr als 20% der Gesamtmortalität bei einer SAB maßgebend sind. Es resultiert eine höhere Rate an systemischer Inflammation, Sepsis bis hin zum Organversagen, *acute respiratory distress syndrome* (ARDS) und Störungen des Gastrointestinaltraktes (Solenski et al. 1995, Bein et al. 2002).

Es liegt nur fragmentarisches Wissen vor, inwieweit eine bakterielle Translokation und eine epitheliale Barrierestörung kausal an den pathophysiologischen Mechanismen der Sepsis und des septischen Schockes beteiligt sind. Deshalb ist es aus klinischen Aspekten wichtig, prädiktive Parameter zu konstituieren, um eine Kausalität zwischen bakterieller Translokation, Pathogenese der Sepsis und der Schwere des Krankheitsverlaufes herzustellen und somit im Falle einer positiven Korrelation neue Therapieansätze und Präventionsmaßnahmen entwickeln zu können.

1.5 Ziele der Arbeit

Der Nachweis einer kausalen Beziehung zwischen epithelialer Barrierestörung, bakterieller Translokation und der Schwere des Krankheitsverlaufes bei kritisch kranken Patienten und deren Quantifizierung steht bislang noch aus.

Ziel dieser Arbeit war, eine Korrelation zwischen epithelialer Barrierestörung, bakterieller Translokation und Schweregrade des Krankheitsverlaufes bei kritisch kranken Patienten mit einer SAB darzustellen bzw. zu widerlegen. Als Maß der bakteriellen Translokation wurde bakterielle DNA im Blut molekularbiologisch nachgewiesen. Zur Evaluation der epithelialen Darmpermeabilität wurde das iFABP sowie das Zwischen-Zell-Protein Claudin-3 im Urin der Patienten quantifiziert. Die Marker der Inflammation wie Leukozyten, C-reaktives Protein (CPR) und Procalcitonin sowie Krankheitsschwere-Scores wurden im Rahmen repetitiver Blutentnahmen auf der Intensivstation über einen maximalen Zeitraum von 14 Tagen entnommen und erhoben.

Um die Vorgänge am Darmepithel und deren Bedeutung beim kritisch kranken Patienten neu zu bewerten, wurden diese neuen Untersuchungsmethoden in einem definierten Patientenkollektiv angewendet.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

2.1.1 Patienten der Studie

Bei dieser Studie handelt es sich um eine prospektive Kohortenstudie bei kritisch kranken Patienten in intensivmedizinischer Behandlung. Es wurde in der Zeit vom 01. November 2014 bis 31. Dezember 2017 Patienten, die auf der anästhesiologischen Intensivstation 0117 oder 0118 der Universitätsmedizin Göttingen aufgenommen wurden, nach Unterzeichnung einer schriftlichen Einwilligungserklärung innerhalb von acht Stunden nach Aufnahme in die Untersuchung eingeschlossen.

2.1.2 Ein- bzw. Ausschlusskriterien

Patienten wurden nach folgenden Kriterien in die Studie aufgenommen:

1. Patienten mit Mehrfachverletzung (*injury severity score* < 16)
2. Polytrauma (*injury severity score* > 16) ohne Schädel-Hirn-Trauma
3. Polytrauma mit Schädel-Hirn-Trauma
4. isoliertes Schädel-Hirn-Trauma
5. spontane intracerebrale Blutung
6. Subarachnoidalblutung

Patienten wurden nach folgenden Kriterien nicht in die Studie aufgenommen:

1. fehlende Einwilligung des Patienten oder des Betreuers
2. Schwangerschaft und Stillzeit
3. Hospitalisierung über 72 h

4. Krankenhauswiederaufnahme im Zeitraum von \leq vier Wochen
5. chronische Darmerkrankung
6. stattgehabte Darmoperation in den letzten zwei Monaten
7. vorbestehende schwere Infektion, z.B. HIV, Hepatitis B oder C
8. Behandlung mit Immunsuppressiva und anti-inflammatorischen Medikamenten (z.B. Glukokortikoiden)
9. hämatologische Grunderkrankung
10. Hämoglobin-Wert unter 6 g/dl
11. Chemotherapie innerhalb der letzten sechs Monate
12. bekannter Myokardinfarkt oder Verdacht auf Myokardinfarkt innerhalb der letzten sechs Wochen
13. Herzinsuffizienz mit New York Heart Association (NYHA) III oder IV
14. stattgehabte Eingriffe mit Herzlungen-Maschine
15. Vorhandensein einer extrakorporalen Zirkulation (z.B. ECMO, Dialyse)
16. schwere floride endogene Psychose, auch bei bestehender Betreuung
17. gleichzeitige Teilnahme an einer Arzneimittel-Studie oder interventionellen Studie, die in die Inflammationsreaktion eingreift
18. unmittelbar bevorstehendes Lebensende

Nach Beenden des intensivstationären Aufenthaltes (Verlegung oder Versterben), beziehungsweise spätestens nach oder mit dem vierzehnten Aufenthaltstag, endete die Studie. Lediglich nach 28 und 90 Tagen erfolgte eine Follow-Up-Untersuchung, welche eine Mortalitätsrate zeigen soll.

2.1.3 Ethik

Die Studie wurde von dem Ethikkomitee genehmigt (Genehmigungsnummer: 22/1/14). Assumed consent vs informed consent.

2.2 Studienablauf

2.2.1 Erfassung klinischer Daten und Einteilung der Patienten

Zur schriftlichen Dokumentation der klinischen Daten wurde für jeden einzelnen Patienten ohne Namensnennung ein dafür vorgesehenen Case Report Form (CRF) angelegt, welcher mit einer Nummer versehen wurde. Die klinischen Daten der Patienten wurden zu den definierten Zeitpunkten erfasst. Zum Aufnahmezeitpunkt day (d0) und an den darauffolgenden Tagen der Liegezeit (d1, d2, d3, d5, d7, d10, d14) wurden Blutdruck, Herzfrequenz, Temperatur, Atemfrequenz, inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO_2), relevante Laborparameter *glasgow coma score* (GCS) und der *richmond agitation and sedation*(RASS)-Score dokumentiert. Ernährungsstatus, Beatmungsstatus, klinische und apparative Untersuchungsbefunde, medikamentöse Therapie sowie das Auftreten von SIRS oder Sepsis wurde protokolliert. Außerdem wurden neben Größe, Gewicht, Geschlecht und *body mass index* (BMI) auch Vorerkrankungen, Vormedikation, Intensiv- und Krankenhausaufenthaltsdauer, Beatmungstage, Dauer bis > 50% enteraler Energiebedarfsdeckung und Dauer bis zum ersten Stuhlgang nach Aufnahme erfasst. Folgende Grunderkrankungen wurden protokolliert: chronische Herzerkrankungen (Koronare Herzerkrankung, Herzinsuffizienz) chronische Lungenerkrankungen (Asthma bronchiale, chronisch obstruktive Lungenerkrankung), chronische Niereninsuffizienz, chronische Lebererkrankungen, Diabetes mellitus und neurologische Erkrankungen (Krampfleiden, Demenz, cerebrovaskuläre Erkrankungen). Die Einschätzung des Schweregrades der Erkrankung wurden mit Hilfe der Erfassung der täglichen klinischen Parameter im CRF, die in folgender Tabelle nach Organsystemen dargestellt wurden, durchgeführt.

TABELLE 1: Erhebung von Daten nach Organsystem

Organsystem	Erfasste Werte
Gastrointestinaltrakt	<ul style="list-style-type: none"> - Alanin-Aminotransferase (ALT) in U/l - Aspartat-Aminotransferase (AST) in U/l - Bilirubin in mg/dl - Ernährungsart und Kalorienzahl - intrabdomineller Druck in mmHg - Vorhandensein einer Food Intolerance
Gerinnungssystem	<ul style="list-style-type: none"> - International Normalized Ratio (INR) - Thrombozytenzahl in $10^3/\mu\text{l}$ - therapeutische Antikoagulation
Herz-Kreislauf-System	<ul style="list-style-type: none"> - Durchschnittsverbrauch von Adrenalin, Noradrenalin oder Dobutamin über einen Zeitraum von 24 Stunden in $\mu\text{g}/\text{min}$ - Hämatokrit in Prozent - Herzfrequenz in min^{-1} - Laktat im Blut in mmol/l - mittlerer arterieller Blutdruck in mmHg - systolischer Blutdruck in mmHg
Infektionsstatus	<ul style="list-style-type: none"> - CRP in mg/l - Leukozytenzahl in $10^3/\mu\text{l}$ - Procalcitonin (PCT) in $\mu\text{g}/\text{l}$ - Temperatur in $^{\circ}\text{C}$
Niere	<ul style="list-style-type: none"> - geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) in ml/min - Harnstoff-N in mg/dl - Kalium und Natrium in mmol/l an d0 - Kreatinin in mg/dl - Bicarbonat
Respiratorisches System	<ul style="list-style-type: none"> - Atemfrequenz in min^{-1} - Blutkohlendioxidkonzentration (PaCO_2) - Blutsauerstoffkonzentration (PaO_2) - inspiratorische Sauerstoffkonzentration - inspiratorischer Spitzendruck - Oxygenierungsindex nach Horowitz - Vorhandensein einer Beatmung
Zentrales Nervensystem	<ul style="list-style-type: none"> - GCS - intrakranielle Hypertension mit intracerebralem Druck (ICP) größer gleich 15 mmHg - RASS

2.3 Zielparameter

2.3.1 Erfassung des Schweregrades der Infektion

Die Einteilung der Sepsis-Schweregrade der Patienten haben wir anhand einer bisher verwendeten Sepsis-Definition einer Expertenkommission angepasst und durchgeführt (Levy et al. 2001). Bei Nachweis der nachfolgenden Kriterien (Temperatur $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ oder $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$, Herzfrequenz > 90 Schläge/Min., Atemfrequenz > 20 oder $\text{PaCO}_2 < 32\text{ mmHg}$, Leukozyten $> 12.000/\text{mm}^3$ oder $< 4.000/\text{mm}^3$) wurde das als SIRS eingestuft. Eine Sepsis ist demnach gegeben, wenn zu den Kriterien ein zusätzlicher mikrobiologischer Nachweis einer Infektion vorliegt. Kommt mindestens eine akute, durch die Sepsis sekundär bedingte Organschädigung hinzu, spricht man von einer schweren Sepsis. Der septische Schock wird definiert mit hypotonen Kreislaufverhältnissen mit einem systolischen arteriellen Blutdruck $< 90\text{ mmHg}$ bzw. einem mittleren arteriellen Blutdruck $< 65\text{ mmHg}$ und einer Notwendigkeit von Vasopressoren. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären. Die schwere Sepsis ist demnach definiert als Sepsis mit Organdysfunktion, Hypoperfusion oder Hypotension.

Während unserer Studie wurde eine neue S3-Leitlinie erhoben, welche im März 2017 publiziert wurde (Rhodes et al. 2017). Da wir aber bereits vor der Veröffentlichung unsere Daten erfasst und bearbeitet haben, fand die S3-Leitlinie keine Anwendung in unserer Studie.

2.3.2 Primäre Zielgrößen

2.3.2.1 Bakterielle DNA-Konzentration im Plasma

Für die Studie waren mehrere Blutentnahmen von jeweils insgesamt 10 ml und Urinproben von jeweils insgesamt von 20 ml notwendig. Die Proben wurden im

Institut für Klinische Mikrobiologie und im Institut für Klinische Chemie auf Marker der bakteriellen Translokation, Endotoxine und Marker der erhöhten epithelialen Permeabilität (iFABP, Claudin-3) untersucht. Für die Quantifizierung von bakterieller DNA wurde im Plasma ein spezifischer Primer für die Darmbakterien *Bacteroides species* und *Enterococcus species* verwendet.

2.3.3 Sekundäre Zielgrößen

2.3.3.1 APACHE II

Für eine prognostische Abschätzung haben wir am Aufnahmetag den *acute physiology and chronic health evaluation*(APACHE)-II-Score benutzt. Dieser wird auf einer Intensivstation angewendet, um den klinischen Schweregrad und die Prognose des erkrankten Patienten zu beurteilen und leitet sich aus folgenden Parametern ab: Temperatur, Herzfrequenz, arterieller Blutdruck, Atemfrequenz, Oxygenierung, pH-Wert, Natrium- und Kaliumwert einer Blutgasanalyse, Hämatokrit, Leukozytenzahl und dem GCS. Die maximal erreichbare Punktzahl ist 71. Patienten mit einer Punktzahl bis zehn werden meist als prognostisch günstig angesehen, Patienten mit höherer Punktzahl werden als prognostisch ungünstig eingestuft und entsprechen einer schwereren Erkrankung mit einem höheren Sterberisiko. Der Score wurde am Aufnahmetag erhoben. Zur Einschätzung der Überlebenschancen eines Patienten auf einer Intensivstation wurde in dieser Studie am Aufnahmetag der APACHE-II-Score verwendet (Knaus et al. 1985). Hieraus ergab sich in unserer Arbeit für jeden einzelnen Patienten seine eigene Aufzeichnung. Die erforderlichen Daten werden aus den vorangegangenen 24 Stunden gesammelt, wobei der jeweils schlechteste Wert für die Berechnung des Scores herangezogen wird. Ein ganzzahliger Wert von 0 bis 71 wird basierend auf mehreren Messungen berechnet.

2.3.3.2 SAPS II

Zur Evaluation des physiologischen Zustands eines Patienten bei Aufnahme bezüglich des spezifischen Mortalitätsrisikos wurde in dieser Studie der *simplified acute physiology*(SAPS)-II-Score verwendet. Es ist eine Maßzahl zur Bewertung des Schweregrades und der Mortalität. Diese Maßzahl wurde aus einer großen Stichprobe von medizinischen und chirurgischen Patienten in Nordamerika und Europa entwickelt (LeGall et al. 1993). Hier werden die Werte innerhalb von 24 Stunden seit dem zur Intensivaufnahme führendem Ereignis dokumentiert. Die errechnete Punktzahl erstreckt sich von 0 bis 163 und ergeben eine prognostizierte Mortalität zwischen 0% und 100%. Der SAPS-II-Score wurde am Aufnahmetag erhoben.

2.3.3.3 SOFA-Score

Der *sequential related organ failure assessment*(SOFA)-Score beurteilt das Mortalitätsrisiko bei einer Sepsis im Verlauf einer Behandlung auf einer Intensivstation unter Berücksichtigung von Oxygenierung, mittleren arteriellen Blutdruck, GCS, Katecholamintherapie, Bilirubinwert, Thrombozytenzahl und dem Kreatininwert. Der SOFA-Score wurde alle 24 Stunden während des 14-tägigen Intensivaufenthaltes erhoben.

TABELLE 3: SOFA-Score (Seymour et al. 2016, mit freundlicher Genehmigung der Zeitschrift Jama)

Organ	Parameter		Punkte			
			1	2	3	4
Lunge	PaO ₂ /FiO ₂	mmHg	< 400	< 300	< 200	< 100
Niere	Kreatinin	mg/dl	1,2 - 1,9	2,0 - 3,4	3,5 - 4,9	≥ 5,0
	Ausfuhrmenge	ml/d	-	-	< 500	< 200
Leber	Bilirubin	mg/dl	1,2 - 1,9	2,0 - 5,9	6,0 - 11,9	≥ 12,0
Herz/ Kreislauf	Blutdruck	mmHg	MAP < 70	Dobutamin	Noradrenalin	Noradrenalin
	Katecholamine		keine Kate- cholamine	jede Dosis	≤ 0,1µg/kg/min	< 0,1µg/kg/min
Blut	Thrombocyten	1000/mm ³	< 150	< 100	< 50	< 20
ZNS	Glasgow Coma Scale		14 - 13	12 - 10	9 - 6	< 6

2.3.3.4 Intraabdomineller Druck

Der intraabdominelle Druck ist ein atemabhängiger gemessener Druck in der Bauchhöhle. Die dazu notwendige Messung erfolgte täglich über ein nicht invasives Verfahren über einen liegenden Blasenkatheter.

2.3.3.5 Insulinbedarf

Der Insulinbedarf wurde während des 14-tägigen Intensivaufenthaltes erhoben. Patienten erhielten eine intravenöse kontinuierliche Insulintherapie, um den Blutzucker in einem Bereich von 120 bis 180 mg/dl zu halten.

2.3.3.6 Gastrales Residualvolumen

Die Messung des gastralen Residualvolumens bei Patienten mit enteraler Ernährung wurde dreimal täglich durchgeführt und als Gesamtvolumen über 24 Stunden um 06.00 Uhr dokumentiert.

2.3.3.7 iFABP-Konzentration im Urin

Dazu wurden nur geringe Mengen an Urin der Patienten gebraucht (10 ml Urin-Monovette®), wobei mit einem Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)-Testkit (HyCult Biotechnology, Uden, Niederlande) ca. 15 bis 30 Patienten untersucht werden können. Direkt nach Abnahme der Probe, wurde die Urinprobe bei 4 °C für 15 Minuten zentrifugiert, in sterile Polypropylen-Röhrchen abgefüllt und bei minus 20 °C bis zur weiteren Verwendung eingefroren. Das kommerzielle Kit basiert auf dem gängigen Sandwich-Prinzip, bei dem die Proben in Mikrotiter Vertiefungen gefüllt werden, die mit Antikörpern gegen iFABP beschichtet sind. Die iFABP/Antikörper-Komplexe wurden durch einen Enzymgekoppelten Zweitantikörper detektiert, welcher das Farbstoffsubstrat für ein zugegebenes Enzym bildete. Nach Stoppen dieser enzymatischen Reaktion wurde die Lichtabsorption durch diesen Farbstoff bei 450 nm spektrophotomet-

risch bestimmt. Anhand einer Standardkurve konnte dann die Konzentration des Proteins im Urin bestimmt werden.

2.3.3.8 Claudin-3-Konzentration im Urin

Die Urinkonzentration von Claudin-3 wurde mit einem ELISA-Testkit (HyCult Biotechnology, Uden, Niederlande) bestimmt, wobei nur geringe Mengen an Urin der Patienten von Nöten war (10 ml Urin-Monovette®). Der Test folgt dem bereits beschriebenen Sandwich-Prinzip: Claudin-3 im Patientenerin bindet an die Antikörper der Mikrotiterplatte. Nach Zugabe des Biotin-gebundenen Brückenantikörpers gegen den Claudin-3/Antikörper-Komplex wird Avidin hinzugefügt, welches an eine Meerrettich-Peroxidase gekoppelt ist. Avidin und Biotin gehen eine enge Bindung ein. Die enzymatische Reaktion der Peroxidase durch Zugabe eines chromogenen Substrates führt zu einem Farbumschlag von blau nach gelb, der nach Unterbrechung der Enzymreaktion durch Schwefelsäure spektrophotometrisch bei 450 nm quantifiziert werden kann. Die Konzentration von Claudin-3 in den Proben konnte dann anhand einer Standardkurve bestimmt werden.

2.4 Ablauf der Probenentnahme

2.4.1 Blut- und Urinentnahmen

Es wurden bei den Patienten acht Blut- und Urinentnahmen durchgeführt. Bei Aufnahme in die Studie und an den folgenden Tagen d1 bis maximal d14 wurden den Patienten jeweils ca. 10 ml Blut und 10 ml Urin aus einem vorhandenen Zugang (arterielle Katheter, zentraler Venenkatheter, perivenöser Katheter, Blasenkateter) abgenommen. Für die Blutentnahmen wurden Lithium-Heparin Monovetten® und jeweils S-Monovetten® à 7,5 ml und 2,7 ml verwendet. Die

Urinentnahmen wurden ebenfalls mit Monovetten® (Sarstedt AG & Co KG, Nümbrecht) à 10 ml durchgeführt. Die 2,7 ml S-Monovette® wurde bis zur weiteren Verarbeitung in einem Gefrierschrank bei minus 20 °C gelagert. Aus dieser Probe wurde später die 16S ribosomale DNA-Konzentration im Plasma im mikrobiologischen Labor quantifiziert. Zusätzlich zur Detektion der Darmbakterien *Bacterioides species* und *Enterococcus species* wurden spezifische Primer verwendet. Die noch vorhandenen Blut- und Urinproben wurden zur gleichen Zeit in einer Kühlzentrifuge (Heraeus Labofuge 400R, Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, MS, USA) zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde dann durch eine Transferpipette viermal 2 ml Urin, sowie sechsmal 0,5 ml EDTA Blut mit LH-Gel in Mikroröhrchen portioniert. Diese Mikroröhrchen wurden anschließend erst bei minus 20 °C, später bei minus 80 °C gelagert. Aus den Urinproben wird zum einen die iFABP- und zum anderen die Claudin-3-Konzentration ermittelt. Weiterhin wurde die Endotoxinkonzentration in den Plasmaproben nachgewiesen, welche als Marker der bakteriellen Translokation dient.

2.5 Materialien

TABELLE 4: Materialien für Blut- und Urinentnahmen

Blut		Urin	
Geräte	Firma	Geräte	Firma
EDTA-Monovette® à 5,5 ml	Sarstedt AG & Co KG	Urin Monovette® à 10 ml	Sarstedt, Nümbrecht
EDTA-Monovette® à 7,5 ml	Sarstedt AG & Co KG	Aufziehkanüle 18 G	BD Microlance
Monovette®, Lithium-Heparin, à 2,7 ml	Sarstedt AG & Co KG	Kühlzentrifuge	Heraeus, USA
Gefriertruhe		Transferpipetten à 3,5 ml	Sarstedt AG & Co KG
Kühlzentrifuge	Heraeus®, Labofuge®	Mikro-Röhrchen mit LH-Gel à 2 ml	Sarstedt AG & Co KG
Transferpipette à 3,5 ml	Sarstedt AG & Co KG		
Mikroröhrchen mit LH-Gel	Sarstedt AG & Co KG		

2.6 Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden mit dem computergestützten Statistikprogramm Sigma Plot® (Systat Software GmbH, Erkrath) statistisch ausgewertet. Bei der tabellarischen Darstellung wurden die Ergebnisse als Median \pm Standardabweichung dargestellt, weil aufgrund der niedrigen Patientenzahlen nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann. Zur grafischen Darstellung wurde der Box-Plot verwendet. Die Box wird in ein oberes und unteres Quartil begrenzt, der schwarze Balken in der Box entspricht dem Median. Durch die Linien, ausgehend von der Box, werden die Daten außerhalb der Box liegende Werte dargestellt, die extremen Ausreißer werden durch einen schwarzen Kreis markiert. Der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test wurde für die statistische Analyse benutzt. Bei einem p-Wert von $\leq 0,05$ wurde statistische Signifikanz angenommen.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

In die vorliegende Studie wurden insgesamt 21 Patienten mit einer aneurysmatisch-bedingten SAB eingeschlossen, die sich im Zeitraum vom 01. November 2014 bis 31. Dezember 2017 in intensivmedizinischer Behandlung befanden. Von den Studienteilnehmern waren 13 weiblich (62%) und acht (38%) männlich. Das mittlere Alter betrug $56,8 \pm 12,3$ Jahre (Standardabweichung). Der BMI lag in dem Patientenkollektiv bei einem Mittelwert von $25,9 \pm 3,5$ (Standardabweichung). Tabelle 5 gibt einen Überblick über die klinischen und demographischen Daten der in die Studie eingeschlossen 21 Patienten sowie über die zwei Score-systeme APACHE II und SAPS II. Zusätzlich zeigt die Tabelle 5 die Dauer in Minuten bis zur ersten Probenentnahmen von Patientenblut.

TABELLE 5: Demographische und klinische Zusammenfassung

Merkmal	Patienten	Median
Anzahl n	21	
Geschlecht (weiblich/männlich)	13/8	
Alter	$56,8 \pm 12,3$	56,6
BMI	$25,9 \pm 3,5$	25,7
SAPS II	$25,5 \pm 10,5$	23,5
APACHE II	$13,5 \pm 4,5$	12,5
Dauer bis Probenentnahme in Minuten	$389,9 \pm 199$	437

Tabelle 6 stellt die dokumentierten bakteriellen Translokationen dar. Insgesamt kam es bei 15 von 21 (71%) der untersuchten Patienten zum Auftreten einer bakteriellen Translokation. In der Subgruppe der Patienten mit nachgewiesener Translokation wurde bei lediglich 13% der Patienten das Darmbakterium *Bacteroides species* nachgewiesen. Eine bakterielle Translokation ausschließlich durch *Enterococcus species* konnte bei 40% der Patienten gezeigt werden. Bei 47% wurden beide Bakterienspezies im Blut nachgewiesen.

TABELLE 6: Differenzierte Darstellung der bakteriellen Translokationen

Bakterielle Spezies	Anzahl der Patienten [%]
<i>Bacteroides species</i>	2 (13%)
<i>Enterococcus species</i>	6 (40%)
<i>Bacteroides und Enterococcus species</i>	7 (47%)

3.2 Sepsis

Insgesamt kam es während des intensivmedizinischen Verlaufes bei acht (38%) Patienten zum Auftreten einer Sepsis. Bei 13 (62%) Patienten trat keine Sepsis auf. Bei 75% der Patienten mit Sepsis konnten zu einem oder mehreren Zeitpunkten des intensivmedizinischen Aufenthaltes eine bakterielle Translokation festgestellt werden. Patienten ohne Sepsis zeigten zu 69% eine bakterielle Translokation. Sechs Patienten (29%) verstarben innerhalb 14 Tagen, davon hatten drei Patienten eine Sepsis und fünf Patienten eine bakterielle Translokation.

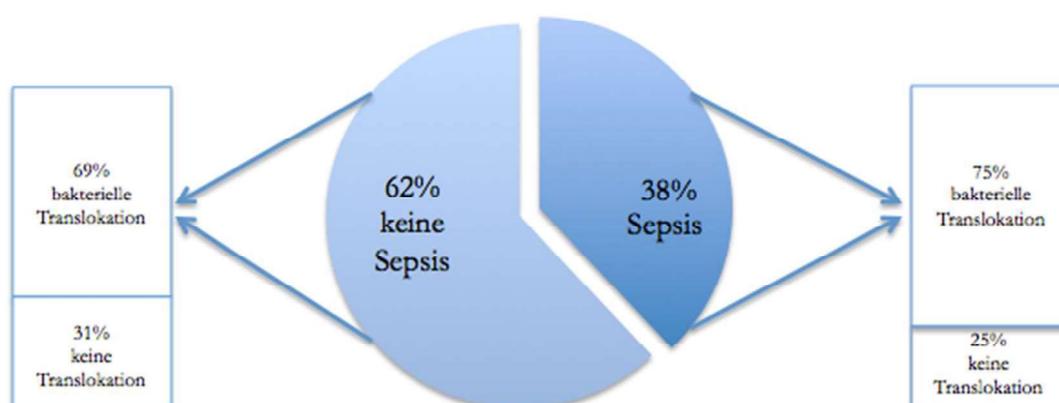


ABBILDUNG 2: Bakterielle Translokation bei Patienten mit Sepsis und ohne Sepsis

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden hinsichtlich verschiedener klinischer Variablen zu mehreren Zeitpunkten des intensivmedizinischen Verlaufes untersucht. Um Zusammenhänge zwischen gastrointestinaler Dysfunktion und der Entstehung einer Sepsis aufzuzeigen, wurden gesammelte Daten von Patienten, die innerhalb ihres stationären Aufenthaltes eine Sepsis entwickelten mit denen von Patienten verglichen, die keine Sepsis entwickelten.

3.2.1 SOFA-Score in Patienten mit und ohne Sepsis

In Abbildung 3 ist der SOFA-Score an Patienten mit und ohne Sepsis an unterschiedlichen Behandlungstagen dargestellt. Die X-Achse zeigt die Behandlungstage, die Y-Achse stellt den SOFA-Score in Punkten dar.

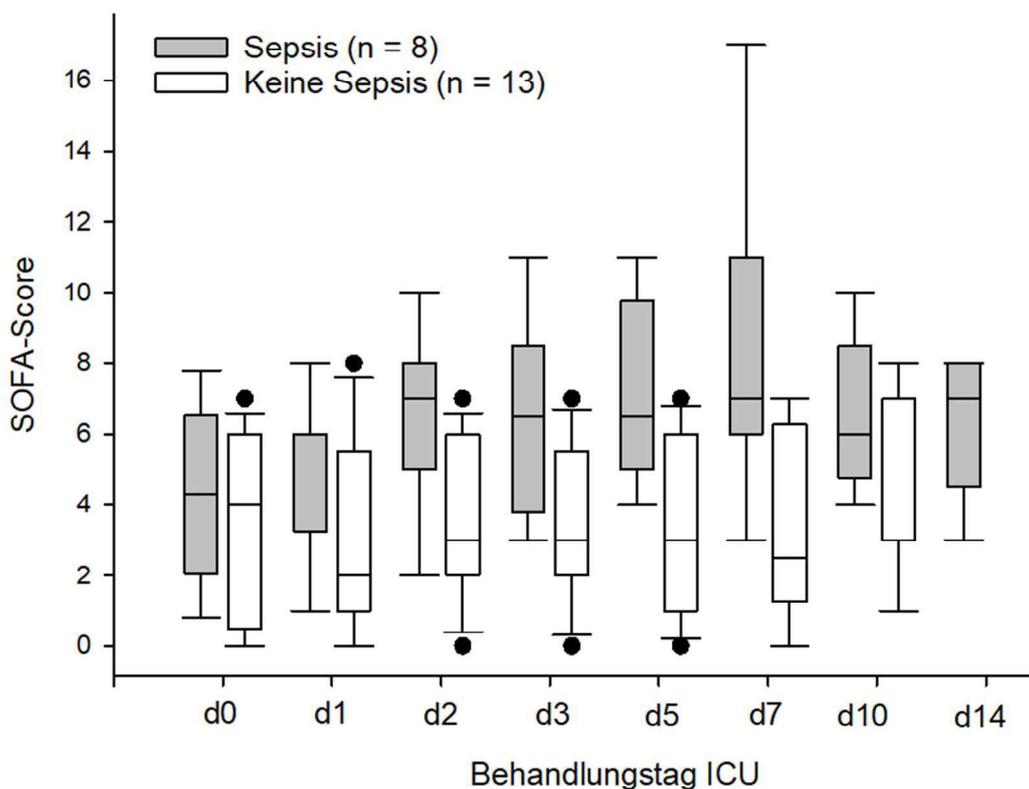


ABBILDUNG 3: SOFA-Score in Patienten mit und ohne Sepsis

Die Abbildung zeigt, dass bei septischen Patienten der SOFA-Score im Verlauf teilweise höhere kumulative Werte aufwies als Patienten ohne Sepsis; die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant.

3.2.2 Intraabdomineller Druck in Patienten mit Sepsis und ohne Sepsis

In Abbildung 4 ist der intraabdominelle Druck (gemessen als Druck in der Harnblase) der beiden Gruppen mit Sepsis bzw. keiner Sepsis im 14-tägigen intensivmedizinischen Verlauf dargestellt. Die Y-Achse zeigt den Druck in mmHg an, die X-Achse die Behandlungstage, an denen der Blasendruck gemessen wurde.

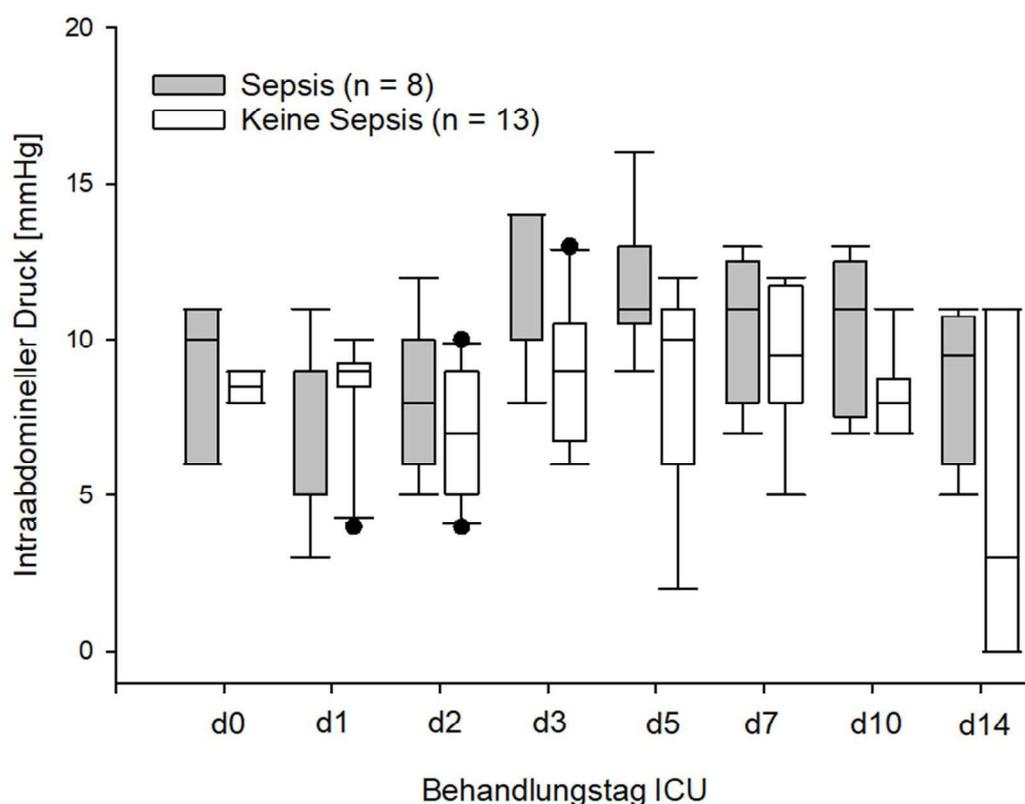


ABBILDUNG 4: Intraabdomineller Druck bei Patienten mit SAB mit Sepsis und ohne Sepsis

Bei der Erhebung der Daten fällt auf, dass die septischen Patienten im Verlauf teilweise höhere Mediane der intraabdominellen Druckwerte aufwiesen als Patienten ohne Sepsis; die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant (Mann Whitney U Test mit Korrektur für multiple Vergleiche nach Holm).

3.2.3 Insulinbedarf in Patienten mit und ohne Sepsis

Abbildung 5 zeigt den Insulinbedarf beider Gruppen an den verschiedenen acht dokumentierten Behandlungstagen. Der Insulin-Bedarf in IE/d ist auf der vertikalen Achse und die Behandlungstage (d0-d14) auf der horizontalen Achse aufgetragen.

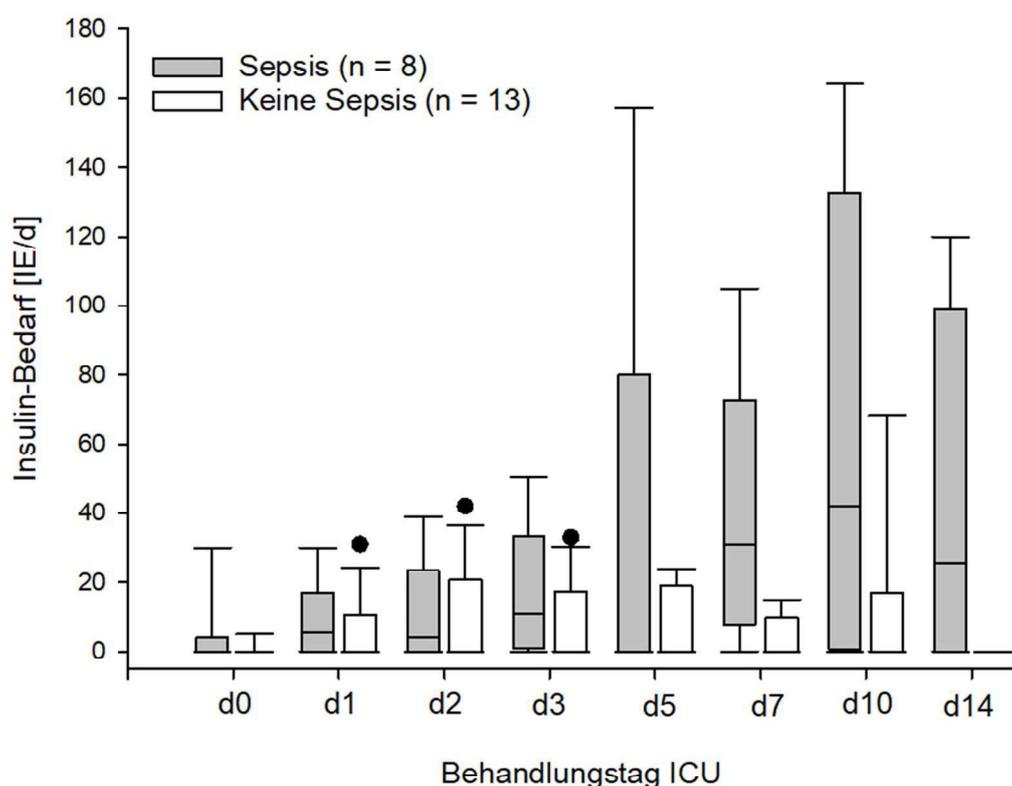


ABBILDUNG 5: Insulin-Bedarf (IE/Tag) bei Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis

Beide Gruppen zeigten an den Behandlungstagen d0, d1, d2 und d3 einen ähnlichen Insulinbedarf. Ab Behandlungstag fünf unterscheiden sich die Gruppen insbesondere in der Variabilität der Werte. Das Auftreten einer Sepsis war ab Behandlungstag fünf mit größeren Insulin-Gaben assoziiert. Statistisch signifikante Werte waren zwischen den Gruppen nicht vorhanden.

3.2.4 Gastrales Residualvolumen in Patienten mit und ohne Sepsis

Abbildung 6 stellt das gastrale Residualvolumen an den verschiedenen Behandlungstagen. Die Y-Achse zeigt das gastrale Residualvolumen in ml, die X-Achse die Behandlungstage d1, d2, d3, d5, d7, d10, d14.

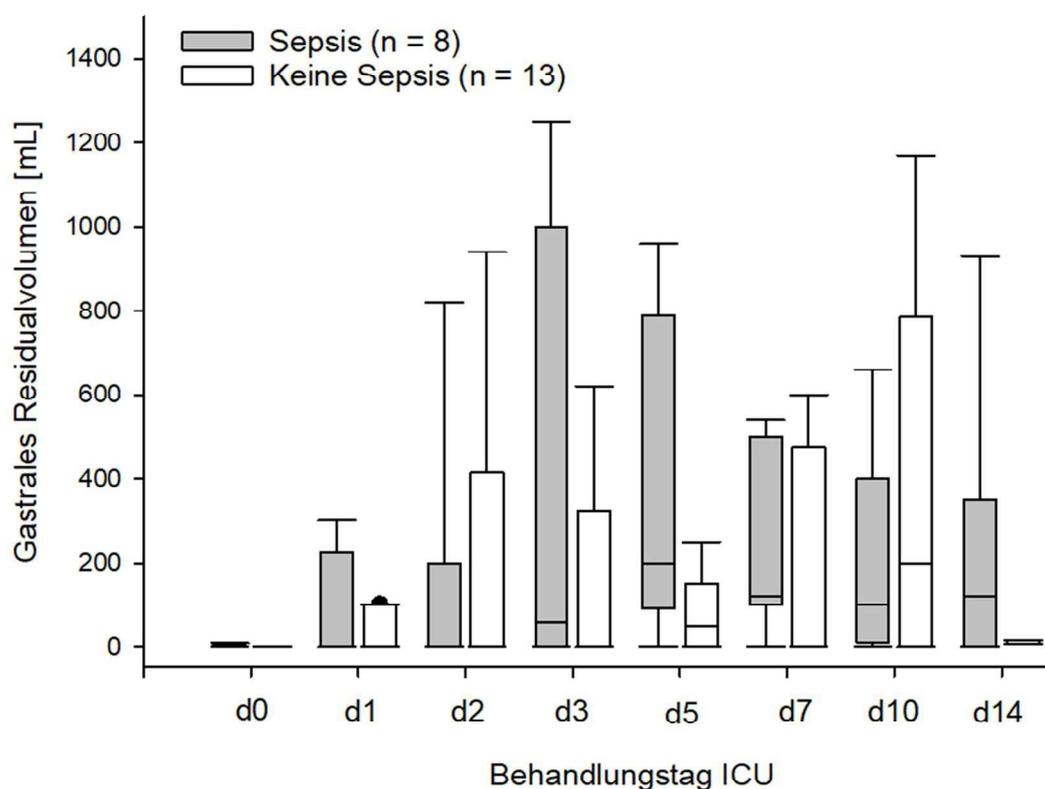


ABBILDUNG 6: Gastrales Residualvolumen in Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis

Patienten mit einer Sepsis wiesen an d3 und d5 höhere Werte an gastralem Residualvolumen auf als Patienten ohne Sepsis. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bestand nicht.

3.3 Glykoprotein sCD14

Die *soluble cluster of differentiation*(sCD14)-Plasmakonzentration wurde während des Intensivaufenthaltes bestimmt und in den einzelnen Gruppen, Sepsis vs. keine Sepsis, bakterielle Translokation vs. keine bakterielle Translokation und Sedierung vs. keine Sedierung verglichen.

3.3.1 sCD14-Plasmakonzentration in Patienten mit und ohne Sepsis

In Abbildung 7 ist die sCD14-Plasmakonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis während des intensivmedizinischen Verlaufes dargestellt. Die Y-Achse stellt die sCD14-Plasmakonzentration in pg/ml dar, die X-Achse die Behandlungstage auf der ICU.

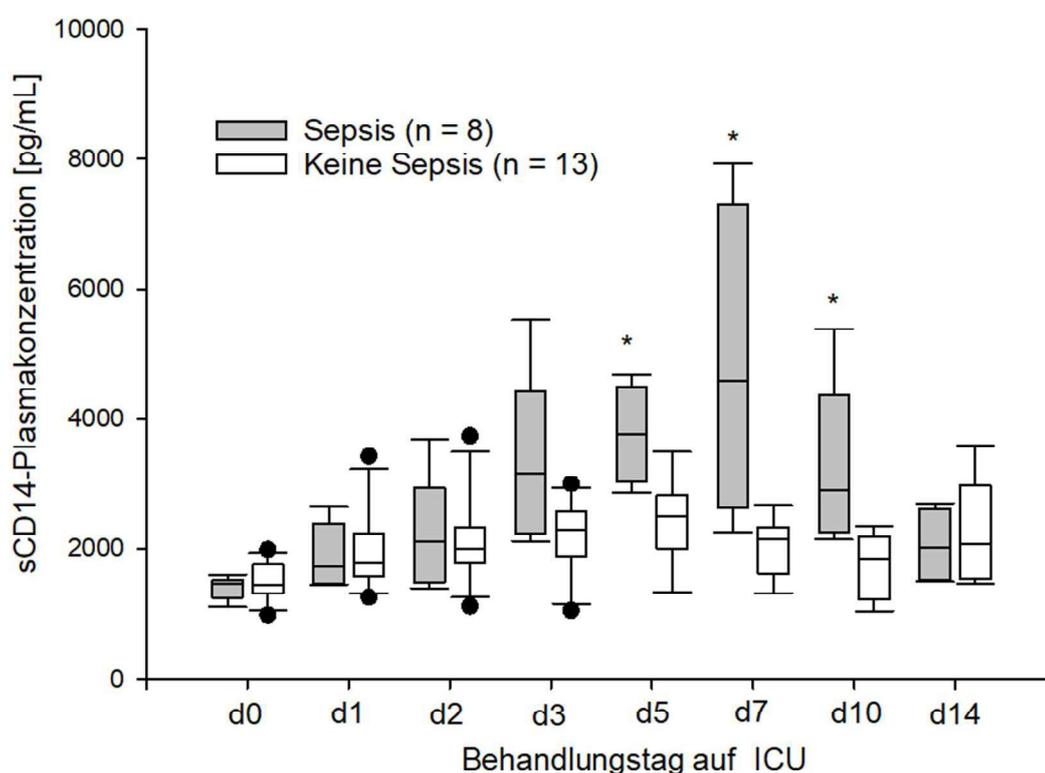


ABBILDUNG 7: sCD14 in Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis

Die sCD14-Plasmakonzentration stieg in beiden Patientenkollektiven in den ersten fünf Behandlungstagen an. Insbesondere im Patientenkollektiv mit Sepsis traten an d5, d7 und d10 hohe Werte auf. Die Plasmakonzentrationen von sCD14 sanken nach 14 Tagen in Richtung der Ausgangswerte.

3.3.2 Kumulative sCD14-Plasmakonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis

Abbildung 8 zeigt die kumulative sCD14-Plasmakonzentration von Patienten mit (54 Proben) und ohne Sepsis (78 Proben). Die vertikale Achse ist in pg/ml der sCD14-Plasmakonzentration eingeteilt, die horizontale Achse stellt die beiden Patientenkollektive im Vergleich dar.

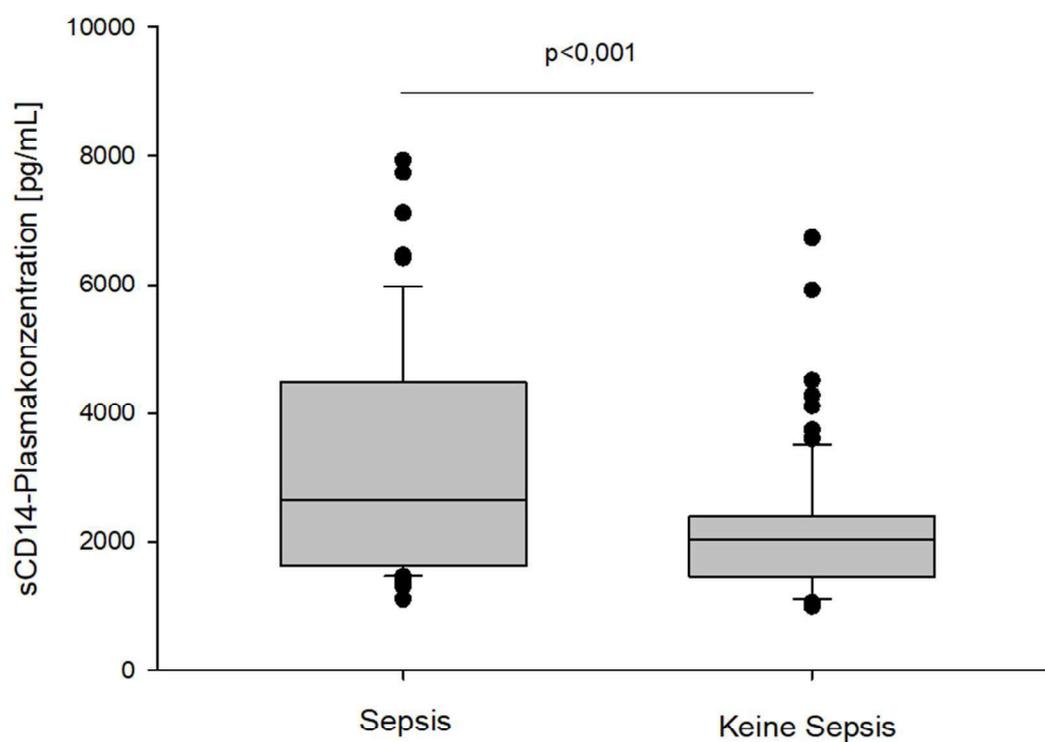


ABBILDUNG 8: Kumulative sCD14-Plasmakonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis

Patienten mit einer Sepsis wiesen kumulativ höhere Werte als Patienten ohne Sepsis sowie eine erhöhte Variabilität innerhalb der Gruppe auf. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden ($p < 0,001$).

3.3.3 sCD14 bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation

Abbildung 9 zeigt die sCD14-Plasmakonzentration bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation. Die sCD14-Plasmakonzentration ist auf der Y-Achse in pg/ml eingeteilt, die X-Achse stellt die beiden Patientenkollektive im Vergleich dar.

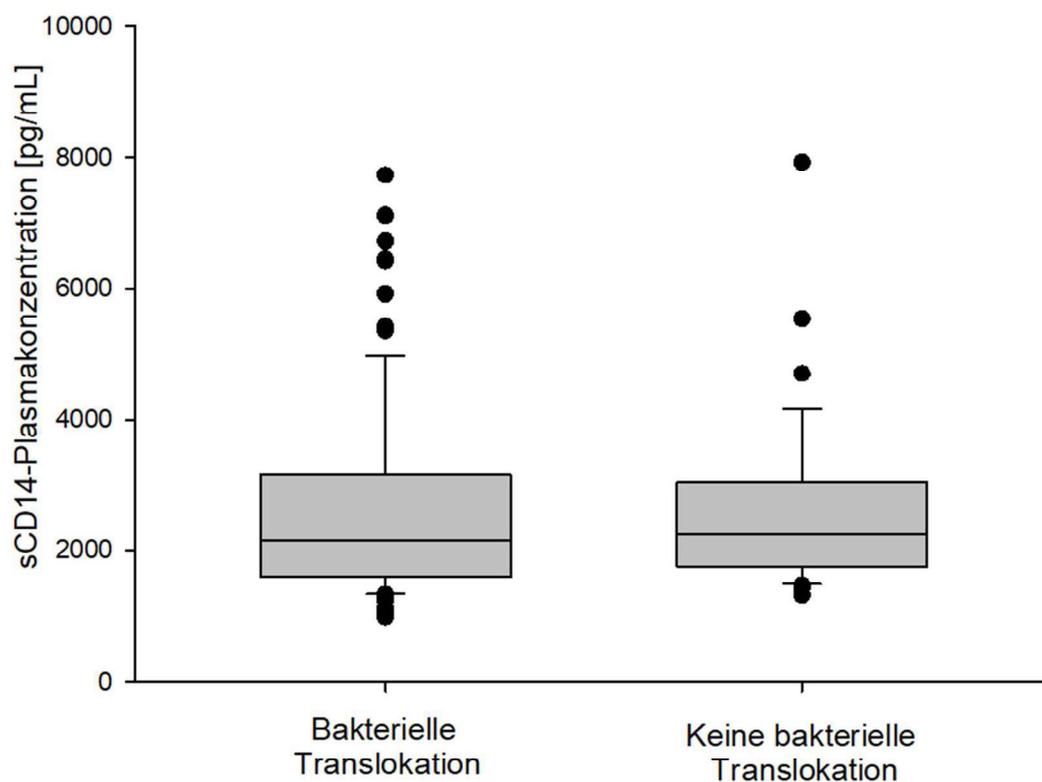


ABBILDUNG 9: sCD14 bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation

Die kumulative sCD14-Plasmakonzentration war vergleichbar hoch bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests konnte kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen festgestellt werden.

3.3.4 sCD14 Plasmakonzentration in Patienten mit und ohne Sedierung

Die sCD14-Plasmakonzentration von Patienten mit und ohne Sedierung wird in Abbildung 10 veranschaulicht. Die sCD14-Plasmakonzentration ist in pg/ml auf der Y-Achse eingeteilt, die X-Achse skizziert die beiden Patientengruppen Sedierung und ohne Sedierung.

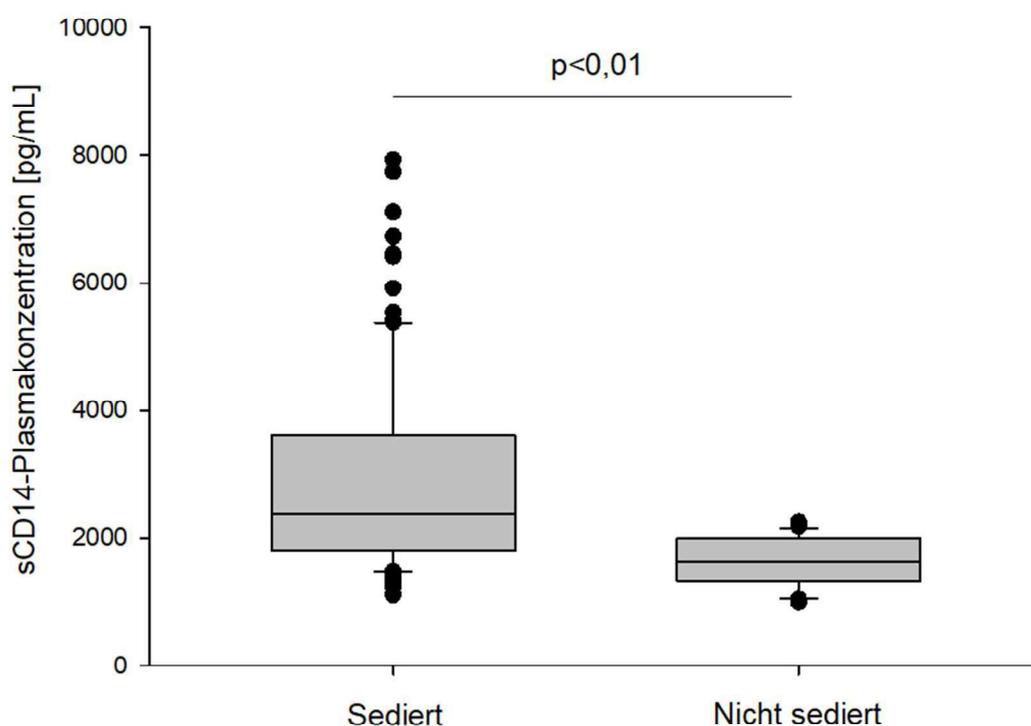


ABBILDUNG 10: sCD14 in Patienten mit und ohne Sedierung

Sedierung n: 17 Patienten

Ohne Sedierung n: 4 Patienten

Patienten mit einer Sedierung wiesen signifikant ($p < 0,01$) höhere kumulative sCD14-Plasmakonzentrationen auf als Patienten ohne Sedierung.

3.4 Biomarker einer erhöhten intestinalen epithelialen Permeabilität

Als Marker der epithelialen Permeabilität der Darmschleimhaut wurde die Urinkonzentration von Claudin-3 und iFABP während des Intensiv Aufenthaltes bestimmt und in den einzelnen Gruppen, Sepsis vs. keine Sepsis, bakterielle Translokation vs. keine bakterielle Translokation und Sedierung vs. keine Sedierung verglichen.

3.4.1 Claudin-3-Urinkonzentration in Patienten mit und ohne Sepsis

Abbildung 11 stellt die kumulative Claudin-3-Urinkonzentration vergleichend zwischen zwei Patientengruppen, die eine Gruppe mit Sepsis (acht Patienten) und die andere Gruppe ohne Sepsis (13 Patienten), dar. Die vertikale Achse zeigt die Claudin-3-Urinkonzentration in ng/ml an, die horizontale Achse veranschaulicht die Einteilung Patienten mit Sepsis und ohne Sepsis.

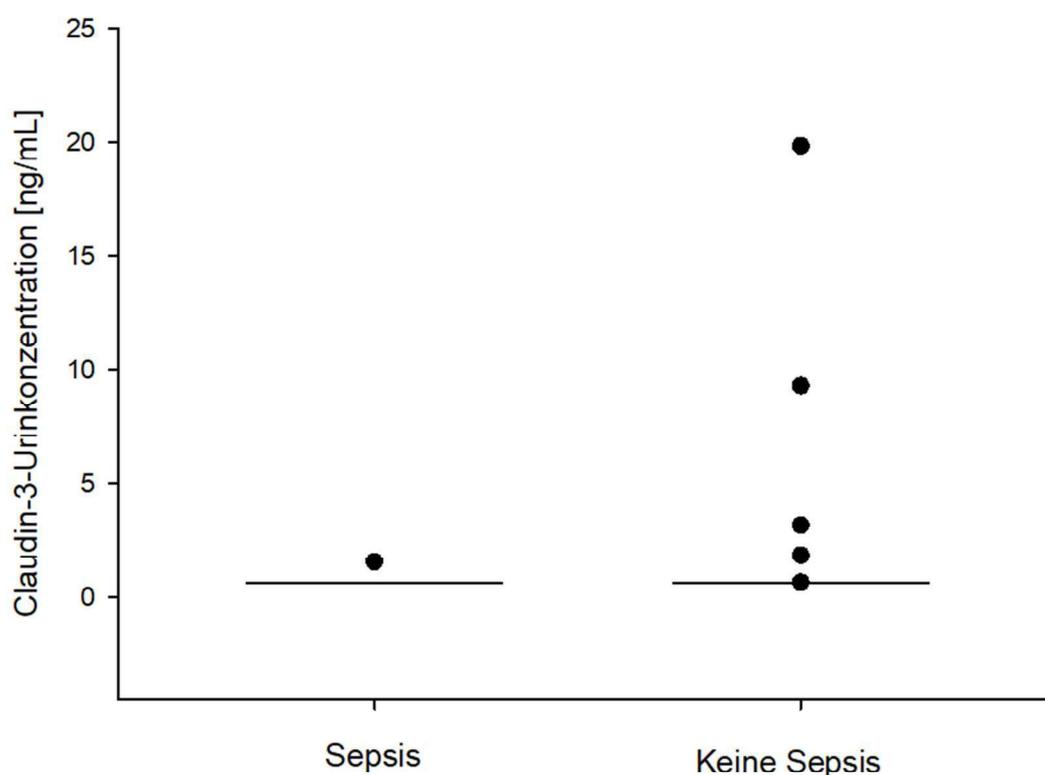


ABBILDUNG 11: Claudin-3 in Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis

Sepsis n: 59 Proben

Keine Sepsis n: 78 Proben

Während des Intensivaufenthaltes zeigte ein Patient (12,5%) aus der Gruppe Sepsis einen Anstieg der Claudin-3-Urinkonzentration, dementsgegen drei Patienten (23%) aus der Gruppe ohne Sepsis eine Erhöhung des Claudin-3-Spiegels zeigten. Alle anderen Patienten wiesen Werte unterhalb der Nachweisgrenze auf. Insgesamt konnte kein statistisch signifikanter Unterschied bezüglich der Claudin-3-Konzentration im Urin zwischen den beiden Gruppen ermittelt werden.

3.4.2 Claudin-3 in Patienten mit und ohne bakterielle Translokation

In Abbildung 12 ist die kumulative Claudin-3-Urinkonzentration von zwei Patientenkollektiven mit bakterieller Translokation (15 Patienten) und keiner bakteriellen Translokation (sechs Patienten) während des intensivmedizinischen Aufenthaltes dargestellt. Die Y-Achse stellt die Claudin-3-Urinkonzentration in pg/ml, die X-Achse die Aufteilung bakterielle Translokation und keine bakterielle Translokation dar.

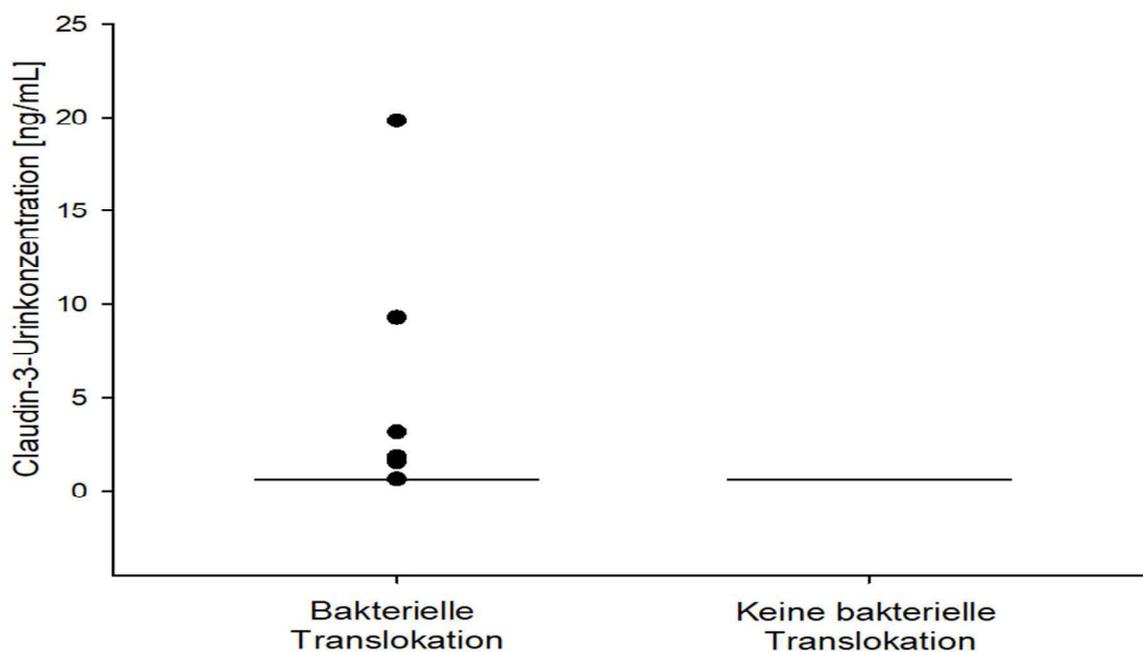


ABBILDUNG 12: Claudin-3 in Patienten mit SAB mit und ohne bakterielle Translokation

Bakterielle Translokation n: 100 Proben

Keine bakterielle Translokation n: 37 Proben

Bei der Erhebung der Ergebnisse fällt auf, dass bei Patienten ohne bakterielle Translokation die Claudin-3-Urinkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze lag, wobei vier Patienten (23,53%) mit bakterieller Translokation höhere Werte von Claudin-3 im Urin aufwiesen. Auch hier zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

3.4.3 Claudin-3-Urinkonzentration in Patienten mit und ohne Sedierung

Die Claudin-3-Urinkonzentrationen von 17 sedierten und vier nicht sedierten Patienten wird in Abbildung 13 dargestellt. Die Y-Achse ist in ng/ml abgebildet, die X-Achse beschreibt die Patienten mit und ohne Sedierung

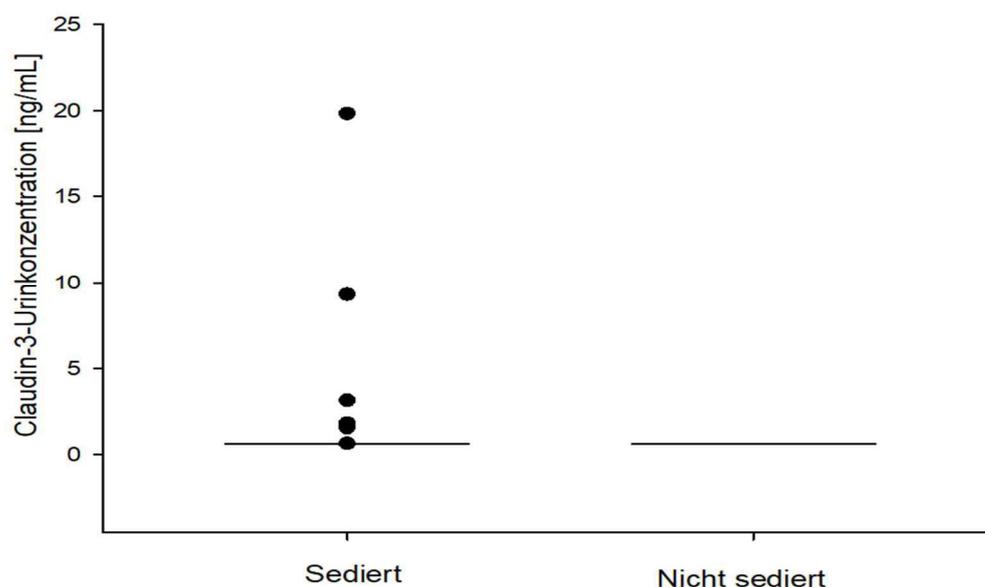


ABBILDUNG 13: Claudin-3 in Patienten mit und ohne Sedierung

Sedierung n: 111 Proben

Keine Sedierung n: 22 Proben

Bei der Erhebung der Ergebnisse fällt auf, dass bei Patienten ohne Sedierung insgesamt keine erhöhten Claudin-3-Urinkonzentrationen nachzuweisen waren, wobei bei vier sedierten Patienten (23,53%) der Nachweis eines Anstieges der Claudin-3-Urinkonzentration gelang. Es konnte jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ermittelt werden.

3.4.4 iFABP-Urinkonzentration bei Patienten mit und ohne Sepsis

Abbildung 14 zeigt die iFABP-Urinkonzentration im Vergleich von acht Patienten mit Sepsis und 13 Patienten ohne Sepsis. Die Skalierung der Y-Achse erfolgte in pg/ml, die X-Achse stellt die Patienten mit und ohne Sepsis dar.

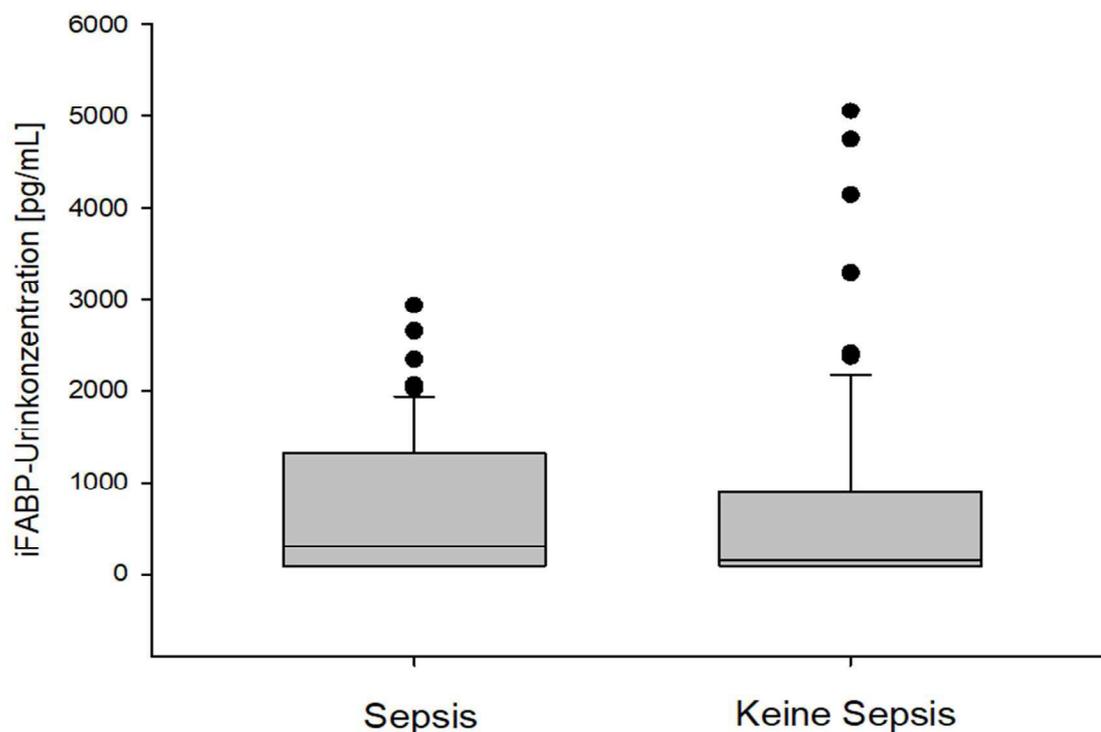


ABBILDUNG 14: iFABP bei Patienten mit SAB mit und ohne Sepsis

Sepsis n: 56 Proben

Keine Sepsis n: 75 Proben

Die kumulative Urinkonzentration von iFABP unterschied sich nicht zwischen Patienten mit und ohne Sepsis. In diesem Modell konnten keine statistisch signifikanten Resultate nachgewiesen werden.

3.4.5 iFABP von Patienten mit und ohne bakterielle Translokation

Abbildung 15 stellt die iFABP-Urinkonzentration von 15 Patienten mit bakterieller Translokation und sechs Patienten ohne bakterielle Translokation dar. Die vertikale Achse ist in pg/ml der eingeteilt, die horizontale Achse stellt die beiden Patientenkollektive im Vergleich dar.

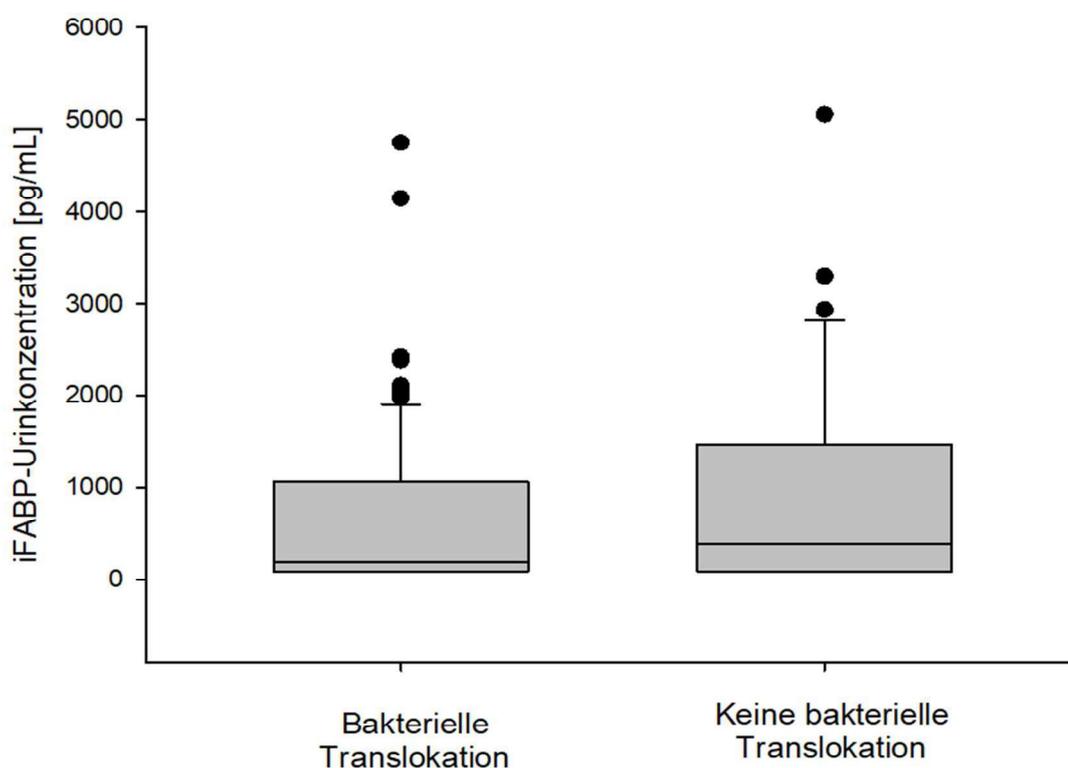


ABBILDUNG15: iFABP von Patienten mit SAB mit und ohne bakterielle Translokation

Bakterielle Translokation n: 100 Proben

Keine bakterielle Translokation n: 37 Proben

Die kumulative Urinkonzentration von iFABP unterschied sich nicht zwischen Patienten mit einer bakteriellen Translokation von Patienten, die keine bakterielle Translokation aufwiesen. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen festgestellt werden.

3.4.6 iFABP-Urinkonzentration bei Patienten mit und ohne Sedierung

Abbildung 16 zeigt die iFABP Urinkonzentration von 17 Patienten mit und vier Patienten ohne Sedierung und wird in pg/ml auf der Y-Achse dargestellt. Die beiden Gruppen werden auf der X-Achse veranschaulicht.

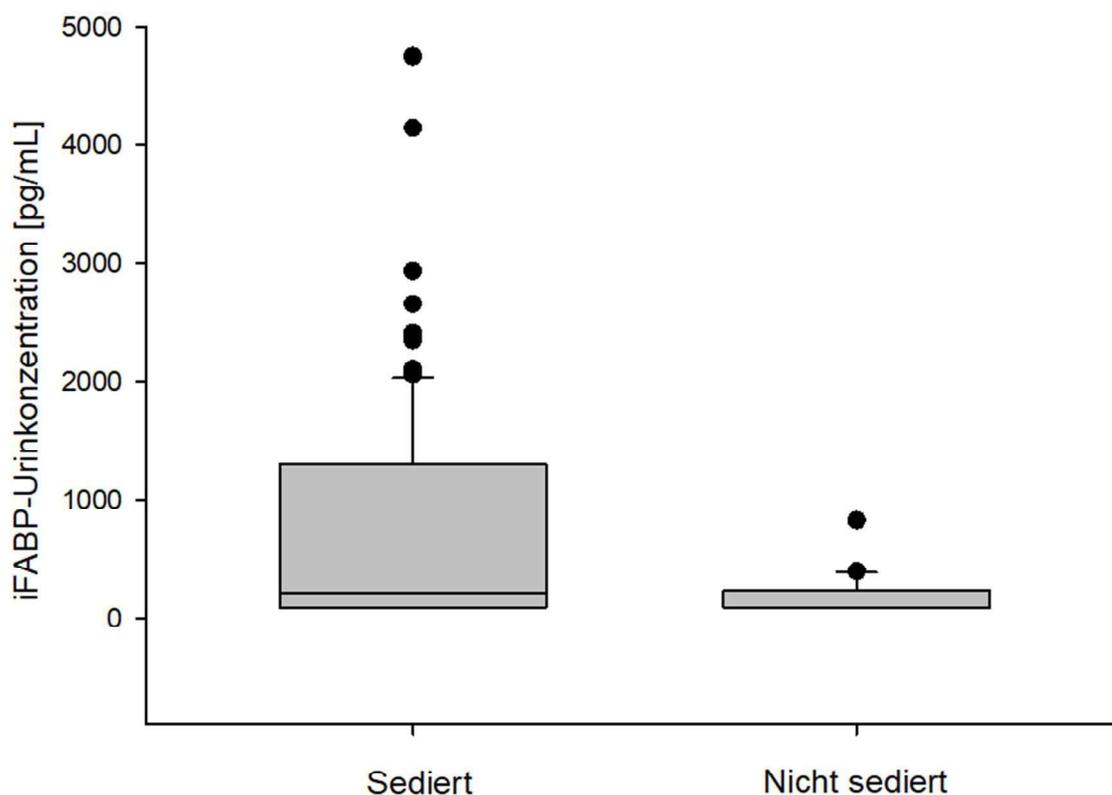


ABBILDUNG 16: iFABP-Urinkonzentration bei Patienten mit SAB mit und ohne Sedierung

Sedierung n: 111 Proben

Keine Sedierung n: 22 Proben

Die kumulative iFABP-Urinkonzentration war bei sedierten Patienten mit SAB signifikant höher im Vergleich zu nicht sedierten Patienten. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests konnte ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen festgestellt werden.

4 Diskussion

4.1 Studienergebnisse

Die Studie untersuchte im Zeitraum November 2014 bis Dezember 2017 prospektiv Patienten, die mit einer aneurysmatischer SAB auf den anästhesiologischen Intensivstationen 0117 und 0118 der Universitätsmedizin Göttingen behandelt wurden. Die Hypothese der Studie war der Nachweis einer positiven Korrelation zwischen epithelialer Barrierestörung, bakterieller Translokation sowie der Schwere des Krankheitsverlaufes eines Patientenkollektivs mit SAB. Zu definierten Zeitpunkten über einen maximalen Zeitraum von 14 Tagen wurden klinische Daten und Messparameter sowie Laborwerte erhoben. Als Maß der bakteriellen Translokation wurde bakterielle DNA von Enterokokkus und Bacteriodes im Blut molekularbiologisch nachgewiesen. Die Krankheitsschwere wurde bei Aufnahme mittels Scores (APACHE II, SAPS II) erhoben und im weiteren klinischen Verlauf wurden Daten durch den SOFA-Score aufgezeichnet. Darüber hinaus wurden der intraabdominelle Druck, der Insulinbedarf und das gastrale Residualvolumen bestimmt. Zur Messung der intestinalen Darmpermeabilität wurden das intrazelluläre epitheliale Transportprotein iFABP sowie das Zwischen-Zell-Protein Claudin-3 im Urin der Patienten quantifiziert. Dabei war von besonderem Interesse, Werte von septischen Patienten mit den Werten von Patienten ohne Sepsis zu vergleichen.

4.1.1 Bakterielle Translokation und Sepsis

Bei acht Patienten, die während des intensivmedizinischen Verlaufes eine Sepsis entwickelten, konnte bei 75% eine bakterielle Translokation für die gramnegativen Darmbakterien *Bacteroides species* und für die grampositiven Darmbakterien *Enterococcus species* nachgewiesen werden. Das komplexe Ökosystem der Darmflo-

ra beherbergt eine Mischung vieler Mikroorganismen, welche sich sowohl in der Qualität als auch in der Quantität im gesamten Gastrointestinaltrakt unterscheiden. Die Besiedlung von Mikroben steigt konstant vom oberen Gastrointestinaltrakt bis hin zum Kolon an (Marteu et al. 2001). Normalerweise werden Bakterien der normalen Darmflora durch Phagozytose getötet. Nach einer Beeinträchtigung der Darmbarriere können die Bakterien überleben und somit in die mesenterialen Lymphknoten translozieren. Vorwiegend translozieren gramnegative Bakterien wie *Escherichia coli*, Klebsiellen und Enterokokken (Steffen et al. 1988). Der Nachweis einer bakteriellen Translokation der Darmbakterienspezies *Bacteroides* und *Enterokokkus* bei septischen Patienten weisen darauf hin, dass diese als mögliche Parameter einer erhöhten intestinalen Permeabilität gedeutet werden können.

Diese klinische Studie hatte nicht das Design, einen kausalen Zusammenhang zwischen bakterieller Translokation und dem Entstehen oder der Aufrechterhaltung einer Sepsis aufzuzeigen. Der vergleichbar hohe Anteil an Translokationen bei Patienten ohne Sepsis lässt auch eine positive Korrelation zwischen diesen Parametern bei septischen Patienten nicht zu. Mehrere klinische Studien haben bisher versucht, klinische Auswirkungen der bakteriellen Translokation aufzuzeigen. MacFie und Kollegen untersuchten in einem Zeitraum von 13 Jahren 927 Patienten, die sich einer Laparotomie unterzogen. Patienten, bei denen eine bakterielle Translokation in mesenterialen Lymphknoten nachgewiesen werden konnte, erlitten häufiger postoperative septische Komplikationen. Besselink (2009) postulierte einen Zusammenhang zwischen Hypoperfusion, gestörter epithelialer Permeabilität mit bakterieller Translokation, Enterozytenschaden und Schweregrad des Krankheitsverlaufes bei Patienten mit schwerer Pankreatitis.

In einer Studie von Kanwar (2000), zeigte sich keine positive Korrelation zwischen der gestörten intestinalen Permeabilität und dem Schweregrad des Krankheitsverlaufes bei kritisch kranken Patienten. Überdies zeigten mehrere klinische Studien, dass eine Behandlung mit Antikörpern gegen inflammatorische Media-

toren sowie eine selektive Darmdekontamination bei Patienten mit schwerer Sepsis keine statistische signifikante Reduktion der Mortalität ergaben (Opal et al. 1997). Es ergaben sich seit der Studie von Carrico (1986), die im Gastrointestinaltrakt den Motor als Multiorganversagens vermuteten, viele Anhaltspunkte, dass die bakterielle Translokation in der Entstehung und Aufrechterhaltung der *critical illness* und des Multiorganversagens eine entscheidende Rolle spielt (Lemaire et al. 1997, Berg 1999). Dennoch mangelt es an Studien, die eine Assoziation von bakterieller Translokation mit klinischen Parametern der *critical illness* in streng definierten Patientengruppen aufzeigen.

Alle acht septischen Patienten der vorliegenden Studie waren operativ versorgt worden und waren unter differenzierter Katecholamintherapie. Insofern ist die Hypothese naheliegend, dass eine Mangel durchblutung der Darmschleimhaut in diesem Patientenkollektiv vorhanden war. Legt man zugrunde, dass die Zellfunktion bei einer Hypoperfusion der Darmschleimhaut nicht aufrechterhalten werden kann, sind eine Reperforationsverletzung der Zotten und die Freisetzung entzündungsfördernder Faktoren und freien Radikalen die Folge. Eine gestörte intestinale Mikrozirkulation (z. B. durch Katecholamintherapie) hätte somit eine erhöhte Darmpermeabilität zur Folge und würde zu einer vermehrten bakteriellen Translokation führen (Fink 1991).

Im Tierversuch konnte bereits ein Zusammenhang zwischen der intestinalen Permeabilität und dem Adenotriphosphat(ATP)-Spiegel im Gewebe nachgewiesen werden (Wattanasirichaigoon et al. 1999). Die Studie von Otamiri (1987) zeigte eine Korrelation zwischen der Anzahl der translozierten Bakterien mit dem Schweregrad der intestinalen Schädigung und der Dauer der Ischämie. Zudem wurde nachgewiesen, dass Patienten nach abdominalchirurgischen Eingriffen mit Ischämiephasen des Splanchnikusgebietes und Nachweis einer bakteriellen Translokation häufiger eine postoperative Sepsis erlitten, als Patienten ohne bakterielle Translokation (Mizuno et al. 2010). Diese Ergebnisse legen nahe, dass eine intakte, gut durchblutete intestinale Barriere eine entscheidende Voraussetzung zur Verhinderung der Entstehung und Aufrechterhaltung der *critical illness*

und des Multiorganversagens ist. Diese Aussage konnte durch einen Vergleich enterale Ernährung und parenterale Ernährung nach Lebertransplantation unterstützt werden (Wicks et al. 1994). Dennoch ist auch bei unterernährten Patienten die Darmbarrierefunktion erheblich beeinträchtigt (Welsh et al. 1998).

4.1.2 Scoring-Systeme

Scoring-Systeme ermöglichen den Krankheitsverlauf eines Patienten zu objektivieren und erlauben auch eine Risikoeinschätzung von Patientenkollektiven in klinischen Studien (Unertl et al. 1997, Grotz et al. 2001). In unserem gesamten Patientenkollektiv lag der APACHE-II-Score im Median bei 12,5 Punkten und der SAPS-II-Score bei 23,5 Punkten. Del Bufalo (1995) verglich in seiner Studie SAPS II und APACHE II an pulmonal erkrankte Patienten auf einer Intensivstation und im Durchschnitt lag der APACHE-II-Score bei 17,5 Punkten und der SAPS-II-Score bei 39,1.

Die in unserer Arbeit beobachtete Mortalität auf der Intensivstation betrug 29% und deckt sich mit der APACHE II ermittelten prognostizierten Sterblichkeitsrate von 28,6% (Mittelwert $13,5 \pm 4,5$). Beim SAPS-II-Score war die vorhergesagte Mortalität niedriger (23,01%) als die tatsächliche Sterblichkeitsrate von $25,5 \pm 10,5$ (Mittelwert \pm Standardabweichung). Bei der Interpretation der Ergebnisse muss jedoch die geringe Anzahl der eingeschlossenen Patienten sowie der Selektionsbias einer Universitätsklinik in Betracht gezogen werden.

Der SOFA-Score ist eine einfache, aber effektive Methode zur Beschreibung von Organfunktionsstörungen bis hin zum Versagen bei kritisch kranken Patienten. Durch regelmäßiges, wiederholtes Scoring können der Zustand des Patienten und die Krankheitsentwicklung überwacht und besser verstanden werden (Vincent et al. 1998). Zudem zeigt die Studie von Ferreira (2001), dass der SOFA-Score ein nützlicher Indikator für eine Prognose während der ersten Tage auf der Intensivstation darstellt. Insgesamt fielen in unserer Studie der SOFA-Score von allen acht septischen Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden,

über die gemessene Zeitdauer der intensivmedizinischen Behandlung höher als von den Patienten ohne Sepsis. Interessanterweise stieg in dem Patientenkollektiv Sepsis in den ersten sieben Behandlungstagen der SOFA-Score ohne signifikanten Unterschied an, sank aber nach 14 Tagen in Richtung der Ausgangswerte. Ein Anstieg der Mortalitätsrate konnte ebenfalls nicht beobachtet werden. Zusammenfassend stellt sich eine Diskrepanz zwischen unseren Daten und der beschriebenen Literatur dar. Hinsichtlich der Prädiktion für die Abschätzung der Erkrankungsschwere und Risikostratifizierung bei Patienten mit einer SAB gibt es für die beschriebenen Scores keine Daten. Die klinische Relevanz des SAPS-II-Scores zur Beschreibung des GCSs bei neurochirurgischen Patienten muss demnach in diesem Kontext bezweifelt werden. Schwierig gestaltet sich auch, wie in unserer Studie der Fall war, wenn ein für die Berechnung notwendiger Wert nicht vorhanden ist. Es bleibt unklar, ob von einem Normwert ausgegangen wird, ein Mittelwert erhoben wird oder der Score nicht durchgeführt werden kann. Dennoch stehen der Intensivmedizin die dargestellten Scoring-Systeme mit gewissen Vorbehalten zur Verfügung und dienen zur Unterstützung klinischer Entscheidungen, individuell auf jeden einzelnen Patienten abgestimmt.

4.1.3 Intraabdomineller Druck

Eine Erhöhung des abdominellen Druckes kann das Überleben eines kritisch Kranken beeinträchtigen. Malbrain (2005) zeigte, dass ein erhöhter abdomineller Druck bei Aufnahme mit einer schweren Organfunktionsstörung während des Aufenthaltes auf der Intensivstation verbunden ist. Ausgehend von diesen Daten wäre es vorstellbar gewesen, dass kritisch kranke Patienten mit einer Sepsis einen höheren intraabdominellen Druck entwickeln als Patienten ohne Sepsis (Malbrain et al. 2005).

In dieser Studie wurden alle acht Patienten mit einer Sepsis und dreizehn Patienten ohne Sepsis hinsichtlich des intraabdominellen Drucks verglichen. Hierbei zeigte sich allerdings bezüglich der mittleren intraabdominellen Drücke im beo-

bachteten Zeitraum kein statistisch signifikanter Unterschied. Das Patientenkollektiv, welches eine Sepsis entwickelte, zeigte täglich Druckwerte im Normbereich und keinen relevanten Anstieg des abdominellen Druckes im Krankheitsverlauf. Es ist daher anzunehmen, dass Sepsis bei kritisch erkrankten Patienten keinen Einfluss auf den intraabdominellen Druck hat. Aufgrund dessen, dass keine kontinuierliche Messung des intraabdominellen Druckes erfolgte, ist es vorstellbar, dass es in kritischen Phasen kurzzeitig zu einer Erhöhung des intraabdominellen Druckes kam. Die Relevanz einer kurzzeitigen Erhöhung ist jedoch unklar.

4.1.4 Insulinbedarf

Patienten mit einer Sepsis zeigten ab Behandlungstag fünf ansteigende Insulindosierungen mit einer hohen Variabilität. Eine naheliegende Erklärung für den höheren Insulinbedarf liegt in der Pathophysiologie des Postaggressionsstoffwechsels, der eine Stressreaktion des Körpers auf Gewebetrauma, Infektion und Schock darstellt und mit einer vorübergehenden peripheren Insulinresistenz mit akuter Hyperglykämie einhergeht. Die Konsequenz ist eine vermehrte Therapie mit Insulin.

Dass eine Hyperglykämie oder ein relativer Insulinmangel bei kritisch kranken Patienten zu schweren Infektionen, zum Multiorganversagen bis hin zum Tod führen kann zeigte eine Studie von van den Berghe (2001). Sogar die Morbidität und Mortalität verringerte sich durch Verwendung von Insulin zur Einhaltung eines Blutzuckerspiegels bei Patienten auf der Intensivstation. Neben einer erhöhten Glykolyse in der Sepsis ist eine therapiebegleitende Hydrocortisongabe eine mögliche Erklärung.

Die Gabe von intravenösem Hydrocortison kann nach den aktuellen Leitlinien zur Behandlung bei erwachsenen Patienten bei einem flüssigkeits- und therapie-refraktären septischen Schock mit einer Tagesdosis von 200 mg/d verabreicht werden. Es ist anzunehmen, dass die Gabe von Hydrocortison über unterschied-

liche Mechanismen zu einer Stabilisierung der Hämodynamik führt, unterdessen ist die genaue Wirkweise noch nicht bis ins Detail geklärt ist. Glukokortikoide verändern in Stresssituationen den Stoffwechsel, es kommt zu einer erhöhten Proteolyse und Gluconeogenese (Khani et al. 2001) und reduzieren die Glukokortikoide und die Insulinsensitivität beim kritisch kranken Patienten (Pretty et al. 2011). Die therapeutische intravenöse Gabe von Hydrocortison führt daher ebenso zu einer Hyperglykämie, Glukoseintoleranz und Insulinresistenz (Annane et al. 2009). Um eine konsequente Normoglykämie zu gewährleisten, ist eine Erhöhung des Insulinbedarfes notwendig (Loisa et al. 2007). Diese Dosissteigerung ist in den Ergebnissen der vorliegenden Studie zu sehen.

4.1.5 Gastrales Residualvolumen

Die Messungen des gastralen Residualvolumens bei Patienten mit enteraler Ernährung ist Bestandteil einer Überwachung um die Applikationsmenge und der passenden Laufgeschwindigkeit zu steuern. Im Rahmen der enteralen Ernährung kann es zu Komplikationen wie Aspiration und einer folgenden Pneumonie kommen. Aus diesem Grund wurden in der Vergangenheit Überwachungsmaßnahmen auf einer Intensivstation empfohlen. In vielen Studien wurde gezeigt, dass 50% der Patienten auf der ICU gastrointestinale Symptome entwickelten (Montejo et al. 1999, Mutlu et al. 2001, Reintam Blaser et al. 2015). Auch bei mehreren neurologischen Erkrankungen wurde eine deutlich verzögerte Magenentleerungszeit beobachtet. In der Studie von Kao (1998) wurde mit Hilfe von radioaktiv markierter Glukose die Zeitdauer der Magenentleerung bewertet. Hierbei zeigte sich, dass Patienten mit Schädel-Hirn-Verletzungen eine verlängerte Magenpassage aufwiesen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

In unseren verglichenen Patientenkollektiven konnte kein statistisch signifikanter Unterschied in der Höhe des gastralen Residualvolumens festgestellt werden. Die Daten unterlagen jedoch einer sehr hohen Variabilität, welche statistische Zwischengruppenvergleiche schwierig machte. Der Median lag in beiden Grup-

pen sehr niedrig. Die Erklärung könnte hierfür sein, dass bei einem hohen Anteil der beatmeten und enteral ernährten Patienten eine komplette enterale Ernährung nicht möglich war, so dass zur Deckung des Tageskalorienbedarfes noch zusätzlich eine parenterale Ernährung appliziert wurde. Die Menge der enteral verabreichten Kost und folglich das gastrale Residualvolumen waren somit gering. Einzelne Patienten wiesen jedoch hohe gastrale Residualvolumina auf. Diese hohe Variabilität der Daten deutet darauf hin, dass für diesen Parameter eine größere Anzahl an Patienten notwendig ist, um verlässliche Aussagen treffen zu können. Hinzu kommt, dass der weniger schwererkrankte Teil des Patientenkollektives mit SAB keine Magensonde hatte, sondern Kost oral zu sich nahm und somit nicht evaluiert werden konnte.

4.1.6 Glykoprotein sCD14

Die erhöhte Darmpermeabilität bei kritisch kranken Patienten wird in vielen Studien kontrovers diskutiert. Das Glykoprotein CD14 ist ein Zelloberflächenrezeptor, der über eine Phosphatidyl-Inositolbrücke in der Membran von Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten verankert ist (Frey et al. 1992). Es dient als Rezeptor für Endotoxine und ist ein spezifischer Marker für Monozyten (Wright et al. 1990). CD14 besitzt eine Rezeptorfunktion für LPS und LPS-Bindungsprotein-Komplexe gramnegativer Bakterien und spielt somit für die LPS-induzierte sekretorische Zellantwort eine große Rolle. Blockierung von CD 14 durch monoklonale Antikörper konnte die LPS-Bindung an Makrophagen unterdrücken (Wright et al. 1990, Couturier et al. 1991).

Der CD14-LPS-LPS Komplex aktiviert eine proinflammatorische Signalkaskade gegen pathologische Erreger. Dieser Komplex wird aus der Zellmembran freigesetzt, wodurch sCD14 entsteht (Mussap et al. 2011). Lösliches CD14 bindet an Bakterien, während es in der Blutbahn zirkuliert und trägt zur Aktivierung von Immunzellen gegen Bakterien bei. In vielen Studien wurde bei kritisch kranken Patienten ein erhöhter sCD14-Spiegel gemessen und mit der Sepsis-Mortalität in

Verbindung gebracht (Krüger et al. 1991, Burgmann et al. 1996, Aalto et al. 2007, de Aguiar et al. 2008).

In unserer Studie stieg die sCD14-Plasmakonzentration in beiden Patientenkollektiven in den ersten fünf Behandlungstagen an. Es kann davon ausgegangen werden, dass bei allen Patienten ein Kontakt mit Endotoxinen stattgefunden hat. Insbesondere die Patientengruppe mit einer Sepsis wiesen kumulativ signifikant höhere sCD14-Spiegel auf als die Patienten ohne Sepsis. Dies legt den Schluss nahe, dass bei Patienten, bei denen sich im Verlauf eine Sepsis entwickelte, bereits mehr Mediatoren und Endotoxine vorhanden waren, als bei den Patienten, die den intensivmedizinischen Aufenthalt ohne Sepsis überstanden. Im Widerspruch der Studie von de Aguiar (2008), lassen unsere Ergebnisse nicht zu, sCD14 als Prognoseparameter für eine Sepsis zu beschreiben. Möglicherweise kann sCD14 als Frühparameter für die Diagnose Sepsis verwendet werden. Inwieweit ein hoher sCD14-Plasmaspiegel am Aufnahmetag als Parameter für eine Sepsis gilt, bedarf es größerer Fallzahlen.

Die sCD14-Plasmakonzentration war bei Patienten mit und ohne bakterielle Translokation vergleichbar hoch, was bedeutet, dass der spezifische Nachweis der beiden Bakterienpezies nicht mit dem unspezifischen Kontakt-Nachweis des Immunsystems mit Endotoxin (LPS) korreliert. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant. sCD14 wird häufig als Marker für die bakterielle Translokation verwendet, da die Messung relativ leicht standardisiert werden kann. Die vorliegenden Ergebnisse machen jedoch deutlich, dass sCD14 als Biomarker für die Monozytenaktivierung dient und wenn es auch mit LPS korreliert, nur als ein indirekter Marker für die bakterielle Translokation verwendet werden kann (Anderson et al 2000).

Gleichwohl zeigte die Studie von Sandler (2011), dass Patienten mit einer chronischen *human immunodeficiency virus*(HIV)-Infektion mit einer bakteriellen Translokation und einem erhöhten sCD14-Plasmaspiegel ein höheres Todesrisiko hatten als Patienten mit einem niedrigen Spiegel und daher als unabhängiger

Prädiktor für die Mortalität bei HIV-Infektionen gilt. Eine kausale Beziehung zwischen einer bakteriellen Translokation und dem Schweregrad des Krankheitsverlaufes konnte aber mit unseren Resultaten nicht nachgewiesen werden.

Eine signifikante höhere sCD14-Plasmakonzentration wiesen beatmete Patienten mit Sedierung auf. Die Patienten erhielten zur Analgosedierung Propofol, Sufentanil, Midazolam, Ketamin und Clonidin. Tavani (1993) konnte zeigen, dass alle zur Analgosedierung zum Einsatz kommenden Medikamente die gastrointestinale Motilität negativ beeinflussen können. Der negative Effekt von Opioiden und Dauer einer Beatmung auf die Darmmotilität wurde auch in einer Studie von van der Spoel (2006) beschrieben. Lee (1999) untersuchte den Einfluss von Propofol auf die kontraktile Aktivität des Gastrointestinaltraktes und zeigte, dass die Kontraktion der glatten Muskelzellen des Magens und Kolons durch die sedierende Substanz verringert ist. In der Studie von Kueppers (1993) wurde im tierexperimentellen Modell die Wirksamkeit von Morphin- und Clonidinbehandlungen auf die bakterielle Translokation getestet. Hierbei zeigte sich, dass Opioide zu einer Reduktion des intestinalen Transports beitragen und es dadurch aufgrund einer bakteriellen Überwucherung im Dün- und Dickdarm zu einer verstärkten bakteriellen Translokation kommt. Vor diesem Hintergrund können diese Daten als ein Hinweis darauf verstanden werden, dass die Sedierung einen direkten Einfluss auf die Höhe des sCD14-Plasmaspiegels hat. Die Ursache für die erhöhten sCD14-Werte in der Gruppe der sedierten Patienten kann jedoch auch mit der Schwere der Erkrankung zusammenhängen. Häufiger Grund für die tiefe Sedation dieser Patienten liegt darin, dass erhöhte Hirndrücke therapiert oder vermieden werden sollen. Patienten mit einem schweren Krankheitsverlauf finden sich gehäuft in der Kohorte der sedierten Patienten. Daten zu sCD14 bei kritisch kranken Patienten mit einer SAB gibt es zu diesem Zeitpunkt noch nicht. Möglicherweise dient die Plasmakonzentration von sCD14, da es ein Akutphasenprotein ist, zu Beginn einer Bakteriämie als Frühparameter eines drohenden septischen Verlaufes.

4.1.7 Intestinale epitheliale Permeabilität

Die Darmbarriere ist eine große Schleimhautoberfläche, auf der Milliarden von Bakterien dem Immunsystem des Darms ausgesetzt sind. Die intakte Darmbarriere schützt einerseits das Eindringen von Mikroorganismen und Toxinen, andererseits nimmt diese essentielle Flüssigkeiten und Nährstoffe auf. Solche mannigfaltigen Aufgaben werden nur durch besondere anatomische und funktionale Strukturen erreicht, aus der die Darmbarriere besteht. Die Funktion wird als intestinale epitheliale Permeabilität beschrieben. Eine intakte Dickdarmschleimhaut ist normalerweise eine Schutzbarriere gegen Bakterien. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass bei einer gestörten Darmbarriere Bakterien gerade diese Schutzbarriere durchdringen können (Johansson et al. 2014). Somit kann eine Bestimmung von intrazellulären Proteinen aus Enterozyten und Proteinen der TJ einen Aufschluss über die Intaktheit der Darmbarriere geben und erlaubt eine Neubewertung der Vorgänge am Darmepithel und deren Bedeutung beim kritisch kranken Patienten.

Claudin-3 ist ein Transmembran-Epithel-Protein, mit hauptsächlicher Funktion für die Darmbarriere. Eine erhöhte Konzentration ist als Hinweis auf ein Integritätsverlust der intestinalen Permeabilität zu werten (Derikx et al. 2008). Fatty acid-binding Proteine sind zytoplasmatische, wasserlösliche Proteine, die sehr gewebespezifisch und reichlich in Enterozyten von Dün- und Dickdarm vorhanden sind. Intestinales FABP kommt überwiegend im Jejunum vor und kann erst nach Schädigung von intestinalen Epithelzellen sowohl im Plasma als auch im Urin gemessen werden. Es wurde berichtet, dass iFABP sich als Marker für die intestinale Permeabilität mit prognostischer Relevanz bei Patienten mit Lebertransplantation und bei Patienten mit einer Zöliakie bereits bewährt hat (Monbaliu et al. 2005, Vreugdenhil et al. 2011, Adriaanse et al. 2013). In einer anderen Studie wurde von einem erhöhtem FABP-Spiegel bei Patienten mit intestinaler Ischämie berichtet (Kanda et al. 1996). Somit kann die Messung von Claudin-3 und iFABP im Urin zur Früherkennung von Schädigung von intesti-

nen Epithelzellen von großem Nutzen sein. In einer Studie mit normalen Probanden und einer intestinalen Ischämie konnte diesbezüglich eine Korrelation zwischen einer Verletzung der Darmschleimhaut mit dem Serumgehalt von iFABP nachgewiesen werden (Lieberman et al. 1997).

Dementgegen untersuchte Kanwar (2000) bei Patienten nach abdominalen Operationen, ob eine gestörte Darmbarriere mit dem septischen Krankheitsverlauf korrelierte. Die Ergebnisse zeigten, dass alle Patienten postoperativ eine erhöhte intestinale Permeabilität aufwiesen. Die Veränderungen der intestinalen Permeabilität korrelierten jedoch nicht mit einem erhöhten Risiko für eine Sepsis. Dieses steht im Einklang zu unseren Ergebnissen. In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass Patienten mit einer SAB sowohl mit Sepsis als auch ohne Sepsis einen Anstieg von zirkulierendem iFABP und Claudin-3 im Urin aufwiesen und somit eine vorübergehende Schädigung von Enterozyten und ihrer Permeabilität erlitten. Interessanterweise wurden in beiden Patientengruppen eine ähnliche Kinetik des zirkulierenden iFABP und von Claudin-3 im Urin gefunden unabhängig sowohl von Entwicklung als auch vom Ausmaß einer Sepsis. Die Bestimmung von Claudin-3 und iFABP als mögliche Früherkennung für eine Schädigung intestinaler Permeabilität zeigte im Verlauf ebenfalls keinen signifikanten Anstieg der Konzentration beider Patientengruppen mit und ohne bakterielle Translokation. Hingegen wiesen die sedierten Patienten eine statistisch signifikante höhere iFABP-Urinkonzentration auf als nicht sedierte Patienten. Die Ursache für die höhere iFABP-Urinkonzentration bei sedierten Patienten kann an dem Schweregrad des Krankheitsverlaufes liegen. Andere Autoren zeigten, dass durch die Sedierung induzierte zeitweise bedingte Hypotonie Enterozytenschäden und eine darauffolgende mesenteriale Ischämie hervorrufen kann (Oldenburg et al. 2004). Niedrige systolische Blutdruck-Werte korrelierten in dieser Studie mit einer hohen iFABP-Konzentration. Die in unserer Studie signifikant erhöhte iFABP-Konzentration bei sedierten Patienten kann also auch Ausdruck der Darmschädigung durch Minderperfusion jejunaler Enterozyten im Rahmen der Sedierung sein.

5 Zusammenfassung

Bei kritisch kranken Patienten wird ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten epithelialen Permeabilität und der Translokation von Bakterien postuliert, die eine entscheidende Rolle in der Entstehung und Aufrechterhaltung der Sepsis und des Multiorganversagens spielen soll.

Die vorliegende prospektive Studie quantifizierte bakterielle Translokation bei Patienten mit einer aneurysmatischen Subarachnoidalblutung und korrelierte diese Werte mit Markern der Permeabilitätserhöhung, der systemischen Inflammation sowie der Schwere des Krankheitsverlaufes.

Hierbei wurden Patientenkohorten mit Sepsis und ohne Sepsis verglichen. Dabei schien die bakterielle Translokation einen großen Einfluss auf den Schweregrad des Krankheitsverlaufes zu haben, dennoch konnte auch aufgrund des observierten Studiendesigns eine kausale Beziehung nicht verifiziert werden.

Nach Auswertung der verwendeten Scoringsysteme und der Daten des klinischen Verlaufes konnte keine signifikante Korrelation mit Daten zur bakteriellen Translokation in das Blut aufgezeigt werden.

Der Marker der erhöhten Permeabilität sCD14 war bei septischen Patienten signifikant höher als bei Patienten ohne Sepsis. Anhand des hohen Spiegels kann eine Prognose zur Sepsis dennoch nicht gestellt werden. Die hohe Konzentration spiegelt nur den stattgefundenen Endotoxinkontakt und die bakterielle Infektion wider. Inwieweit eine frühe Diagnose der Sepsis bei kritisch kranken Patienten bei erhöhter sCD14-Konzentration zu stellen ist, bedarf es einer größeren Anzahl von Patienten. Einen Anstieg der zwei weiteren untersuchten Marker der erhöhten Permeabilität iFABP und Claudin-3 zeigte sich sowohl bei Patienten mit einer Sepsis als auch bei Patienten ohne Sepsis und war statistisch nicht signifikant. Die erhöhten Spiegel zeigten lediglich, dass eine vorübergehende Schädigung der Enterozyten stattgefunden haben muss und die Darmbarriere gestört

war. Die Bestimmung von Claudin-3 und iFABP zeigte, dass alle Patienten eine erhöhte intestinale Permeabilität aufwiesen. Die gestörte Darmbarriere korrelierte jedoch nicht mit dem Auftreten einer Sepsis.

Eine Korrelation zwischen epithelialer Barrierestörung, bakterieller Translokation und dem Schweregrad des Krankheitsverlaufes bei Patienten mit einer Subarachnoidalblutung konnte in dieser Studie nicht aufgezeigt werden.

Für ein besseres Verständnis der kausalen Zusammenhänge am Darmepithel und deren Auswirkungen bei Patienten mit einer Subarachnoidalblutung sind weitere experimentelle und prospektiv randomisierte Studien an möglichst streng definierten Patientenkollektiven wünschenswert. Anhand weiterer erprobter Surrogatparameter für eine epitheliale Barrierestörung und einen umfassenderen Nachweis für bakterielle Translokation verschiedener Darmbakterien, sollte der Krankheitsverlauf bei Patienten mit einer Subarachnoidalblutung erneut bewertet werden.

6 Literaturverzeichnis

Aalto H, Takala A, Kautiainen H, Siitonen S, Repo H (2007): Monocyte CD14 and soluble CD14 in predicting mortality of patients with severe community acquired infection. *Scand J Infect Dis* 39, 596-603

Adams HP, Gordon DL Jr. (1991): Nonaneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Ann Neurol* 29, 461-462

Adriaanse MP, Tack GJ, Passos VL, Damoiseaux JG, Schreurs MW, van Wijck K, Riedl R, Masclee AA, Buurman WA, Mulder, CJ et al. (2013): Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. *Aliment Pharmacol Ther* 37, 482-490

Ambrose NS, Johnson M, Burdon, DW, Keighley MR (1984): Incidence of pathogenic bacteria from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. *Br J Surg* 71, 623-625

Anderson KV (2000): Toll signaling pathways in the innate immune response. *Curr Opin Immunol* 12, 13-19

Annane D, Bellissant E, Bollaert PE, Briegel J, Confalonieri M, De Gaudio R, Keh D, Kupfer Y, Oppert M, Meduri GU (2009): Corticosteroids in the treatment of severe sepsis and septic shock in adults: a systematic review. *JAMA* 301, 2362-2375

Bederson J, Connolly ES, Batjer HH Jr., Dacey RG, Dion JE, Diringer MN, Duldner JE, Harbaugh RE Jr., Patel AB, Rosenwasser RH, American Heart Association (2009): Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Stroke* 40, 994-1025

Bein T, Kuhr LP, Metz C, Woertgen C, Philipp A, Taeger K. (2002): ARDS und schweres Schädelhirntrauma. *Therapiestrategien im Konflikt. Anaesthesist* 51, 552-556

Berg RD (1999): Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol* 473, 11-30

Besselink MG, van Santvoort HC, Renooij W, de Smet MB, Boermeester MA, Fischer K, Timmerman HM, Ahmed Ali U, Cirkel, GA et al. (2009): Intestinal barrier dysfunction in a randomized trial of a specific probiotic composition in acute pancreatitis. *Ann Surg* 250, 712-719

Bounous G (1982): Acute necrosis of the intestinal mucosa. *Gastroenterology* 82, 1457-1467

Brisman JL, Song JK, Newell DW et al. (2006): Cerebral aneurysms. *N Engl J Med* 355, 928-939

Burgmann H, Winkler S, Locker GJ, Presterl E, Laczika K, Staudinger T, Knapp S, Thalhammer F, Wenisch C, Zedwitz-Liebenstein K et al. (1996): Increased, serum concentration of soluble CD14 is a prognostic marker in gram-positive sepsis. *Clin Immunol Immunopathol* 80, 307-310

-
- Carrico CJ, JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV (1986): Multiple-organ-failure syndrome. *Arch Surg* 121, 196-208
- Clarkson B, Thompson D, Horwith M, Luckey EH et al. (1960): Cyclical edema and shock due to increased capillary permeability. *Am J Med* 29, 193-216
- Couturier C, Haeffner-Cavaillon N, Caroff M, Kazatchkine MD (1991): Binding sites for endotoxins (lipopolysaccharides) on human monocytes. *J Immunol* 147, 1899-1904
- de Aguiar BB, Girardi I, Paskulin DD, de Franca E, Dornelles C, Dias FS, Bonorino C, Alho CS (2008): CD14 expression in the first 24h of sepsis: effect of -260C>T CD14 SNP. *Immunol Invest* 37, 752-769
- Deitch EA (1990): Intestinal permeability is increased in burn patients shortly after injury. *Surgery* 107, 411-416
- Del Bufalo C, Morelli A, Bassein L, Fasano L, Quarta CC, Pacilli AM, Gunella G (1995): Severity scores in respiratory intensive care: APACHE II predicted mortality better than SAPS II. *Respir Care* 40, 1042-1047
- Derikx JP, van Waardenburg DA, Thuijls G, Willigers HM, Koenraads M, van Bijnen AA, Heineman E, Poeze M, Ambergen T, van Ooij A et al. (2008): New insight in loss of gut barrier during major non-abdominal surgery. *PLoS One* 3, e3954
- Di Pasquale G, Pinelli G, Andreoli A, Manini G, Grazi P, Tognetti F (1987): Holter detection of cardiac arrhythmias in intracranial subarachnoid hemorrhage. *Am J Cardiol* 59, 596-600
- Doig CJ, Sutherland LR, Sandham JD, Fick GH, Verhoef M, Meddings JB (1998): Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med* 158, 444-451
- Dorhout Mees SM, Rinkel GJ, Feigin VL, Algra A, van den Bergh WM, Vermeulen M, van Gijn, J (2007): Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev*, Cd000277
- Engel C, Brunkhorst FM, Bone HG, Brunkhorst R, Gerlach H, Grond S, Gruendling M, Huhle G, Jaschinski U, John S et al. (2007): Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med* 33, 606-618
- Evaldson G, Heimdahl A, Kager L, Nord CE (1982): The normal human anaerobic microflora. *Scand J Infect Dis Suppl* 35, 9-15
- Feigin VL, Rinkel GJ, Algra A, Vermeulen M, van Gijn J (1998): Calcium antagonists in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Neurology* 50, 876-883
- Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent JL (2001): Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA* 286, 1754-1758
- Fink MP (1991): Gastrointestinal mucosal injury in experimental models of shock, trauma, and sepsis. *Crit Care Med* 19, 627-641
- Frey EA, Miller DS, Jahr TG, Sundan A, Bazil V, Espevik T, Finlay BB, Wright SD (1992): Soluble CD14 participates in the response of cells to lipopolysaccharide. *J Exp Med* 176, 1665-1671

- Fukushima R, Kobayashi S, Okinaga K (1998): Bacterial translocation in multiple organ failure. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 99, 497-503
- Gacouin A, Camus C, Gros A, Isslame S, Marque S, Lavoué S, Chimot L, Donnio PY, Le Tulzo Y (2010): Constipation in long-term ventilated patients: associated factors and impact on intensive care unit outcomes. *Crit Care Med* 38,1933-1938
- Grotz M, von Griensven M, Stalp M, Kaufmann U, Hildebrand F, Pape HC (2001): Scoring des Multiorganversagens nach schwerem Trauma. Vergleich des Goris-, Marshall- und Moore-Scores. *Chirurg* 72, 723-730
- Hernández G, Hasbun P, Velasco N, Wainstein C, Buggedo G, Bruhn A, Klaassen J, Castillo L (2007): Splanchnic ischemia and gut permeability after acute brain injury secondary to intracranial hemorrhage. *Neurocrit Care* 7, 40-44
- Hunt WE, Hess RM (1968): Surgical risk as related to time of intervention in the repair of intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 28, 14-20
- Ingall T, Asplund K, Mähönen M, Bonita R (2000): A multinational comparison of subarachnoid hemorrhage epidemiology in the WHO MONICA stroke study. *Stroke* 31, 1054-1061
- Johansson ME, Gustafsson JK, Holmén-Larsson J, Jabbar KS, Xia L, Xu H, Ghishan FK, Carvalho FA, Gewirtz AT, Sjövall H et al. (2014): Bacteria penetrate the normally impenetrable inner colon mucus layer in both murine colitis models and patients with ulcerative colitis. *Gut* 63, 281-291
- Kanda T, Niot I, Foucaud L, Fujii H, Bernard A, Ono T, Besnard P (1996): Effect of bile on the intestinal bile-acid binding protein (I-BABP) expression. In vitro and in vivo studies. *FEBS Lett* 384, 131-134
- Kanwar S, Windsor AC, Welsh F, Barclay GR, Guillou PJ, Reynolds JV (2000): Lack of correlation between failure of gut barrier function and septic complications after major upper gastrointestinal surgery. *Ann Surg* 231, 88-95
- Kao CH, ChangLai SP, Chieng PU, Yen TC (1998): Gastric emptying in male neurologic trauma. *J Nucl Med* 39, 1798-1801
- Khani S, Tayek JA (2001): Cortisol increases gluconeogenesis in humans: its role in the metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 101, 739-747
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE (1985): APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13, 818-829
- Krüger C, Schütt C, Obertacke U, Joka T, Müller FE, Knöller J, Köller M, König W, Schönfeld W (1991): Serum CD14 levels in polytraumatized and severely burned patients. *Clin Exp Immunol* 85, 297-301
- Kueppers PM, Miller TA, Chen CY, Smith GS, Rodriguez LF, Moody FG (1993): Effect of total parenteral nutrition plus morphine on bacterial translocation in rats. *Ann Surg* 217, 286-292
- Landry DW, Oliver JA (2001): The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 345, 588-595

- Lee TL, Ang SB, Dambisya YM, Adaikan GP, Lau LC (1999): The effect of propofol on human gastric and colonic muscle contractions. *Anesth Analg* 89, 1246-1249
- 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, 2957-2963
- Lemaire LC, van Lanschot JJ, Stoutenbeek CP, van Deventer SJ, Wells CL, Gouma DJ (1997): Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or epiphenomenon still unproven. *Br J Surg* 84, 1340-1350
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G (2021): SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31, 1250-1256
- Lieberman JM, Sacchetti J, Marks C, Marks WH (1997): Human intestinal fatty acid binding protein: report of an assay with studies in normal volunteers and intestinal ischemia. *Surgery* 121, 335-342
- Liebers V, Raulf-Heimsoth M (2003): Endotoxine - Wirkung und Nachweisverfahren, BGFA-Info Archiv, <http://www.ipa.ruhr-uni-bochum.de/publik/info0103/endotoxin.php>
- Loisa P, Parviainen I, Tenhunen J, Hovilehto S, Ruokonen E (2007): Effect of mode of hydrocortisone administration on glycemic control in patients with septic shock: a prospective randomized trial. *Crit Care* 11, R21
- MacFie J, Reddy BS, Gatt M, Jain PK, Sowdi R, Mitchell CJ (2006): Bacterial translocation studied in 927 patients over 13 years. *Br J Surg* 93, 87-93
- Malbrain ML, Chiumello D, Pelosi P, Bihari D, Innes R, Ranieri VM, Del Turco M, Wilmer A, Brienza N, Malcangi V et al. (2005): Incidence and prognosis of intraabdominal hypertension in a mixed population of critically ill patients: a multiple-center epidemiological study. *Crit Care Med* 33, 315-322
- Marteau P, Pochart P, Doré J, Béra-Maillet C, Bernalier A, Corthier G (2001): Comparative study of bacterial groups within the human cecal and fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol* 67, 4939-4942
- Milatz S, Krug SM, Rosenthal R, Günzel D, Müller D, Schulzke JD, Amasheh S, Fromm M (2010): Claudin-3 acts as a sealing component of the tight junction for ions of either charge and uncharged solutes. *Biochim Biophys Acta* 1798, 2048-2057
- Mizuno T, Yokoyama Y, Nishio H, Ebata T, Sugawara G, Asahara T, Nomoto K, Nagino M (2010): Intraoperative bacterial translocation detected by bacterium-specific ribosomal rna-targeted reverse-transcriptase polymerase chain reaction for the mesenteric lymph node strongly predicts postoperative infectious complications after major hepatectomy for biliary malignancies. *Ann Surg* 252, 1013-1019
- Monbaliu D, de Vries B, Crabbé T, van Heurn E, Verwaest C, Roskams T, Fevery J, Pirenne J, Buurman WA (2005): Liver fatty acid-binding protein: an early and sensitive plasma marker of hepatocellular damage and a reliable predictor of graft viability after liver transplantation from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 37, 413-416
- Montejo JC (1999): Enteral nutrition-related gastrointestinal complications in critically ill patients: a multicenter study. The nutritional and metabolic working group of the spanish society

of intensive care medicine and coronary units. *Crit Care Med* 27, 1447-1453

Mussap M, Noto A, Fravega M, Fanos V (2011): Soluble CD14 subtype presepsin (sCD14-ST) and lipopolysaccharide binding protein (LBP) in neonatal sepsis: new clinical and analytical perspectives for two old biomarkers. *J Matern Fetal Neonatal* 24, 12-14

Mutlu GM, Mutlu EA, Factor P (2001): GI complications in patients receiving mechanical ventilation. *Chest* 119, 1222-1241

Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD (2004): Acute mesenteric ischemia: a clinical review. *Arch Intern Med* 164, 1054-1062

Ono S, Tsujimoto H, Yamauchi A, Hiraki S, Takayama E, Mochizuki H (2005): Detection of microbial DNA in the blood of surgical patients for diagnosing bacterial translocation. *World J Surg* 29, 535-539

Opal SM, Fisher CJ Jr, Dhainaut JF, Vincent JL, Brase R, Lowry SF, Sadoff JC, Slotman GJ, Levy H, Balk RA et al. (1997): Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med* 25, 1115-1124

Otamiri T, Sjö Dahl R, Tagesson C (1987): An experimental model for studying reversible intestinal ischemia. *Acta Chir Scand* 153, 51-56

Oudemans-van Straaten HM, van der Voort PJ, Hoek FJ, Bosman RJ, van der Spoel JI, Zandstra DF (2002): Pitfalls in gastrointestinal permeability measurement in ICU patients with multiple organ failure using differential sugar absorption. *Intensive Care Med* 28, 130-138

Pretty C, Chase JG, Lin J, Shaw GM, Le Compte A, Razak N, Parente JD (2011): Impact of glucocorticoids on insulin resistance in the critically ill. *Comput Methods Programs Biomed* 102, 172-180

Reintam Blaser A, Starkopf J, Malbrain ML (2015): Abdominal signs and symptoms in intensive care patients. *Anaesthesiol Intensive Ther* 47, 379-387

Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME et al. (2016): Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 43, 304-377

Rinkel GJ, Feigin VL, Algra A, van den Bergh WM, Vermeulen M, van Gijn J (2005): Calcium antagonists for aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Cochrane Database Syst Rev* (1):CD000277

Roumen RM, Hendriks T, van der Ven-Jongekrijg J, Nieuwenhuijzen GA, Sauerwein RW, van der Meer JW, Goris RJ (1993): Cytokine patterns in patients after major vascular surgery, hemorrhagic shock, and severe blunt trauma. Relation with subsequent adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure. *Ann Surg* 218, 769-776

Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE, Pedersen C, Ruxrungtham K, Lewin SR, Emery S et al. (2011): INSIGHT SMART Study Group. Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis* 203, 780-790

Schmieder K, Heuser L, Skodda S (2007): Vorgehen bei nicht traumatischer Subarachnoidalblutung des Erwachsenen. *Deutsches Ärzteblatt* 104, 2649-2654

-
- Sedman PC, Macfie J, Sagar P, Mitchell CJ, May J, Mancey-Jones B, Johnstone D (1994): The prevalence of gut translocation in humans. *Gastroenterology* 107, 643-649
- Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, Rubenfeld G, Kahn JM, Shankar-Hari M, Singer M et al. (2016): Assessment of clinical criteria for sepsis: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* 315, 762-774
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM (2016): The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* 315, 801-810
- Solenski NJ, Haley EC Jr, Kassell NF, Kongable G, Germanson T, Truskowski L, Torner JC (1995): Medical complications of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a report of the multicenter, cooperative aneurysm study. Participants of the multicenter cooperative aneurysm study. *Crit Care Med.* 23, 1007-1017
- Steffen EK, Berg RD, Deitch EA (1988): Comparison of translocation rates of various indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph node. *J Infect Dis* 157, 1032-1038
- Tavani A, Petrillo P, La Regina A, Sbacchi M (1990): Role of peripheral mu, delta and kappa opioid receptors in opioid-induced inhibition of gastrointestinal transit in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 254, 91-97
- Teasdale GM, Drake CG, Hunt W, Kassell N, Sano K, Pertuiset B, De Villiers JC (1988): A universal subarachnoid hemorrhage scale: report of a committee of the World Federation of Neurosurgical Societies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51, 1457
- Unertl K, Kottler BM (1997): Prognostische Scores in der Intensivmedizin. *Anaesthesist* 46, 471-480
- van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R (2001): Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 345, 1359-1367
- van der Spoel JI, Schultz MJ, van der Voort PH, de Jonge E (2006): Influence of severity of illness, medication and selective decontamination on defecation. *Intensive Care Med* 32, 875-880
- van Gijn J, Rinkel GJ (2001): Subarachnoid haemorrhage: diagnosis, causes and management. *Brain* 124, 249-278
- Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S (1998): Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med* 26, 1793-1800
- Vollmar B, Menger MD (2011): Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbecks Arch Surg* 396, 13-29
- Vreugdenhil AC, Wolters VM, Adriaanse MP, Van den Neucker AM, van Bijnen AA, Houwen R, Buurman WA (2011): Additional value of serum I-FABP levels for evaluating

celiac disease activity in children. *Scand J Gastroenterol* 46, 1435-1441

Wang, H, Ma S (2008): The cytokine storm and factors determining the sequence and severity of organ dysfunction in multiple organ dysfunction syndrome. *Am J Emerg Med* 26, 711-715

Wattanasirichaigoon S, Menconi MJ, Delude RL, Fink MP (1999): Effect of mesenteric ischemia and reperfusion or hemorrhagic shock on intestinal mucosal permeability and ATP content in rats. *Shock* 12, 127-133

Welsh FK, Farmery SM, MacLennan K, Sheridan MB, Barclay GR, Guillou PJ, Reynolds JV (1998): Gut barrier function in malnourished patients. *Gut* 42, 396-401

Wicks C, Somasundaram S, Bjarnason I, Menzies IS, Routley D, Potter D, Tan KC, Williams R (1994): Comparison of enteral feeding and total parenteral nutrition after liver transplantation. *Lancet* 344, 837-840

Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC (1990): CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 249, 1431-1433

Yu B, Wright SD (1995): LPS-dependent interaction of Mac-2-binding protein with immobilized CD14. *J Inflamm* 45, 115-125

7 Danksagung

Ich möchte mich hiermit bei Herrn Prof. Dr. med. Konrad Meissner, Chefarzt der Anästhesiologie der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen, für die Möglichkeit der Anfertigung dieser Arbeit sowie die Überlassung des Themas bedanken.

Herrn PD Dr. med. Joern Schäper danke ich besonders für das interessante Dissertationsthema, die hervorragende Betreuung und seine ständige Hilfsbereitschaft. Vor allem für die anspruchsvolle Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich herzlich bedanken. Mein Dank gilt nicht zuletzt an die gesamte Arbeitsgruppe für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, viele zahlreiche Anregungen und Hinweise, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.