

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

Auswirkungen einer Variation im TREM-1-Gen auf die Mortalität bei septischen Patienten

INAUGURAL-DISSERTATION

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

vorgelegt von

Luca Julius Peter Runzheimer

aus
Gießen

Göttingen 2023

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuer/in: Prof. Dr. med. A. Mansur

Ko-Betreuer/in: PD Dr. med. M. Grade

Prüfungskommission

Referent/in: Prof. Dr. med. A. Mansur

Ko-Referent/in:

Drittreferent/in:

Datum der mündlichen Prüfung:

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Auswirkung einer Variation im TREM-1-Gen auf die Mortalität bei septischen Patienten“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....
(Unterschrift)

Die Daten, auf denen die vorliegende Arbeit basiert, wurden teilweise publiziert:

Runzheimer J, Mewes C, Büttner B, Hinz J, Popov A-F, Ghadimi M, Kristof K, Beissbarth T, Schamroth J, Tzvetkov M, et al. (2019): Lack of an Association between the Functional Polymorphism TREM-1 rs2234237 and the Clinical Course of Sepsis among Critically Ill Caucasian Patients—A Monocentric Prospective Genetic Association Study. *J Clin Med* **8**, 301

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	7
1.1 Sepsis	7
1.1.1 Allgemeine Einleitung.....	7
1.1.2 Epidemiologische Aspekte der Sepsis	10
1.1.3 Pathophysiologie, Symptome und Klinik der Sepsis.....	11
1.1.4 Therapieansätze bei Sepsis	13
1.2 Sepsis und Immunsystem.....	14
1.2.1 Rolle des Immunsystems bei einer Sepsis.....	14
1.2.2 <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1 (TREM-1)</i>	15
1.3 Sepsis und Genetik	18
1.3.1 Sepsis und Einzelnukleotid-Polymorphismen	18
1.3.2 Genetischer Polymorphismus TREM-1 rs2234237	18
1.4 Fragestellung.....	21
2 Material und Methoden	23
2.1 Material.....	23
2.1.1 Substanzen.....	23
2.1.2 Kits und Assays.....	23
2.1.4 Gebrauchswaren	24
2.1.6 Geräte	25
2.2 Patienten	26
2.2.1 Patientenkollektiv	26
2.2.2 Blutentnahme	27
2.2.3 Erhebung der klinischen Daten.....	27
2.2.4 Datenbank	29
2.3 Methoden.....	30
2.3.1 DNA-Extraktion.....	30
2.3.2 Bestimmung der DNA-Konzentration	31
2.3.3 Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	31
2.3.4 Allelische Diskriminierung.....	33
2.3.5 Statistik	34
3 Ergebnisse.....	36
3.1 Patienten	36
3.1.1 Patientengruppierung.....	36
3.1.2 Patientenkollektiv	36
3.2 Gesundheitsstatus.....	38

3.2.1	Gesundheitszustand vor Beginn der Sepsis.....	38
3.2.2	Gesundheitszustand bei Diagnose der Sepsis	39
3.2.3	Krankheitsverlauf	40
3.3	Mortalitätsanalyse	46
3.3.1	90-Tagesmortalität und 28-Tagesmortalität.....	46
3.3.2	Multivariate Cox-Regression.....	48
4	Diskussion.....	50
5	Zusammenfassung.....	58
6	Anhang	59
7	Literaturverzeichnis	70
	Danksagung	82
	Lebenslauf.....	83

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) Signalwege in Monozyten (weiß), neutrophilen Granulozyten (schwarz) und in beiden Zellarten (grau) (Tessarz und Cerwenka 2008). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.	16
Abbildung 2: Allelische Diskriminierung beim <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs2234237	34
Abbildung 3: 90-Tagesüberlebensrate nach <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp	47
Abbildung 4: 28-Tagesüberlebensrate nach <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp	48

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: <i>Sepsis-related Organ Failure Assessment</i> (SOFA) Score (modifiziert nach Vincent et al. 1996). Creative commons license CC BY-NC.	9
Tabelle 2: Substanzen mit Hersteller	23
Tabelle 3: Kits und Assays mit Hersteller.....	23
Tabelle 4: Gebrauchswaren mit Hersteller	24
Tabelle 5: Geräte mit Hersteller	25
Tabelle 6: Verteilung des <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen	36
Tabelle 7: Patientencharakteristika in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen.....	37
Tabelle 8: Vorerkrankungen in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen (Auswahl).....	38
Tabelle 9: Operativer Status vor Beginn der Sepsis in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen.....	39
Tabelle 10: Gesundheitszustand am Tag der Sepsis-Diagnose in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen.....	40
Tabelle 11: Identifizierter Fokus der Sepsis in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen	40
Tabelle 12: Aufenthaltsdauer der <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen.....	41
Tabelle 13: SOFA-Scores und der SOFA-Subscores in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen	42
Tabelle 14: Laborparameter und klinische Daten der Krankheitsschwere (MW \pm SD) in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen....	43
Tabelle 15: Parameter der Organdysfunktionen in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen	44
Tabelle 16: Anteile der nachgewiesenen Erreger an allen Keimnachweisen in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen	45
Tabelle 17: Prozentuale Verteilung der Krankheitserreger in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen	45
Tabelle 18: Überleben nach 90 und 28 Tagen in den <i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen.....	46
Tabelle 19: Cox-Regression für die 90-Tagesmortalität.....	49
Tabelle 20: Cox-Regression für die 28-Tagesmortalität.....	49

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
APACHE	<i>Acute physiology and chronic health evaluation</i>
aPTT	Aktivierete partielle Thromboplastinzeit
ARDS	<i>Acute respiratory distress syndrome</i>
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMI	<i>Body-mass-index</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CIP	<i>Critical illness polyneuropathy</i>
COPD	Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
COVID-19	<i>Corona virus disease 2019</i>
CRF	<i>Clinical report form</i>
CRP	C-reaktives Protein
DAP12	<i>DNAX-activating protein of 12 kDa</i>
DIC	<i>Disseminated intravascular coagulation</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FAM	<i>Fluorescein amidite</i> (Carboxyrhodamin)
FiO ₂	Inspiratorischer Sauerstoffanteil
GCS	<i>Glasgow coma scale</i>
ICD	<i>International classification of diseases</i>
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
KHK	Koronare Herzerkrankung
LPS	Lipopolysaccharide
MAF	<i>Minor allele frequency</i>
MAP	Mittlerer arterieller Druck
MCP-1	<i>Monocyte chemotactic protein-1</i>
MGB	<i>Minor groove binder</i>
MIF	<i>Macrophage migration inhibitory factor</i>

MODS	<i>Multiple organ dysfunction syndrome</i>
NF- κ B	<i>Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells</i>
NLR	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain (Nod)-like receptors</i>
PAMP	<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PCT	Procalcitonin
PRR	<i>Pattern recognition receptors</i>
qSOFA	<i>Quick sepsis-related organ failure assessment</i>
Rs-Nummer	<i>Reference SNP cluster</i>
SARS-CoV-2	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2</i>
SIRS	Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom
SOFA	<i>Sepsis-related organ failure assessment</i>
SOP	<i>Standard operating procedure</i>
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> , Einzelnukleotid-Polymorphismus
sTREM-1	<i>Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1</i>
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TLT	<i>TREM-like transkript</i>
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha
TREM	<i>Triggering receptor expressed on myeloid cells-1</i>
VIC	6-Carboxyfluorescein

1 Einleitung

1.1 Sepsis

1.1.1 Allgemeine Einleitung

Die Sepsis ist ein lebensbedrohliches Krankheitsbild, das mit einer dysregulierten Immunantwort eines Wirts auf eine systemische Infektion assoziiert ist (Singer et al. 2016). Aktuell ist die Sepsis eine der führenden Todesursachen weltweit (Angus und Van der Poll 2013; Vincent et al. 2014; Kempker und Martin 2020) und eine Haupttodesursache auf Intensivstationen (Mayr et al. 2014). Dennoch handelt sich bei diesem Krankheitsbild um eine kaum beachtete Herausforderung für die Volksgesundheit (Angus 2010). Durch die Corona-Pandemie rückt die Sepsis verstärkt in den Fokus. Das *Severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2* (SARS-CoV-2) wurde als Auslöser einer viralen Sepsis identifiziert (Chen et al. 2020; Liu et al. 2020). Bei der *Corona Virus Disease 2019* (COVID-19) treten neben asymptomatischen auch fulminante Verläufe mit Organversagen im Sinne einer Sepsis auf (Wiersinga et al. 2020). Hinweise deuten an, dass die Pathophysiologie von COVID-19 der einer Sepsis ähnelt (Arunachalam et al. 2020; Brüssow 2020). Danach kommt es auch bei COVID-19 zu einer Überaktivierung der Immunantwort mit einer vermehrten Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine, wie Interleukin-(IL)-6 und Tumornekrosefaktor alpha (TNF α) (Hirano und Murakami 2020). Da es auch bei einer Sepsis zu dieser Signaltransduktion kommt (Hotchkiss und Karl 2003; Arcaroli et al. 2005), können Kenntnisse zum Krankheitsbild der Sepsis dazu beitragen, COVID-19 besser zu verstehen und Therapiekonzepte zu entwickeln (Alhazzani et al. 2020).

1992 definierte ein Expertengremium bei einer Konsensuskonferenz des *American College of Chest Physicians* und der *Society of Critical Care Medicine* Sepsis als eine systemische inflammatorische Reaktion auf eine Infektion. Beim Auftreten einer Organdysfunktion wurde das Syndrom als „schwere Sepsis“ klassifiziert und beim Auftreten einer Hypotension, die sich nicht durch eine adäquate Flüssigkeitsgabe beenden lässt, als „septischer Schock“ (Bone et al. 1992). 2001 übernahm ein Expertengremium verschiedener amerikanischer und europäischer Gesellschaften für Intensivmedizin die alte Definition der systemischen Reaktion des Wirts auf die Inflammation weitgehend, wobei die Diagnosekriterien um weitere mögliche Symptome und Laborparameter erweitert wurden (Levy et al. 2003). Zur Diagnose einer Sepsis wurden 1992 bei nachgewiesener Infektion oder bei klinischem Infektionsverdacht die Kriterien für das systemische inflammatorische Response-Syndrom

(SIRS) herangezogen. Zur Diagnose einer Sepsis mussten mindestens zwei der vier möglichen SIRS-Kriterien erfüllt sein. Die SIRS-Kriterien umfassten neben Vitalparametern, wie Körpertemperatur, Herz- oder Atemfrequenz auch Veränderungen im Blutbild (Bone et al. 1992). Die Diagnose anhand der SIRS-Kriterien zeigte jedoch bei hoher Sensitivität eine unzureichende Spezifität (Vincent et al. 2013).

Seit 2016 wird daher die Definition von Singer et al., die sogenannte Sepsis-3-Definition, verwendet (s. o.). Die Unterscheidung zwischen Sepsis und schwerer Sepsis wurde obsolet. Bei der Neudefinition wurde auch der Terminus septischer Schock neu definiert. Ein septischer Schock liegt vor, wenn zur Aufrechterhaltung eines mittleren arteriellen Drucks > 65 mmHg trotz adäquater Volumentherapie der Einsatz von Vasopressoren erforderlich ist und wenn gleichzeitig ein Laktat-Wert im Serum > 2 mmol/l vorliegt.

Aktuell fehlen sowohl standardisierte Tests zur Diagnose einer Sepsis als auch spezielle Laborwerte oder Biomarker. Dies erschwert die Diagnose, insbesondere wenn kein serologischer oder kultureller Erregernachweis gelingt, beispielsweise bei antibiotisch therapierten Patienten. Hinzu kommt, dass die Vermehrung eines Erregers in Kultur eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt (Cohen et al. 2015; Vincent 2016), weshalb die Zeit bis zum Erregernachweis prolongiert wird. Die Art des Materials, die initiale Keimmenge im entnommenen Probenmaterial, die Erregerspezies und weitere Faktoren (z. B. Transportdauer der Probe) beeinflussen die benötigte Zeit für einen Erregernachweis. So kann beispielsweise eine Blutkulturendiagnostik zwischen fünf und sieben Tagen in Anspruch nehmen (Neumeister et al. 2009).

Eine Sepsis lässt sich nach der neuen Sepsis-3-Definition bei einem Infekt oder klinischen Infektverdacht durch eine Verschlechterung des *Sepsis-related Organ Failure Assessment* (SOFA) Scores um ≥ 2 Punkte diagnostizieren. Zusätzlich zum SOFA-Score wurde der *quickSOFA* (qSOFA)-Wert zur Detektion von Risikopatienten im ambulanten oder nicht intensivmedizinischen-stationären Umfeld entwickelt. Der qSOFA-Wert wird anhand von drei klinischen Merkmalen erhoben: Atemfrequenz ≥ 22 /min, systolischer Blutdruck ≤ 100 mmHg und Vorliegen einer Bewusstseinsminderung (Singer et al. 2016). Der SOFA-Score erfasst die Organdysfunktion bei intensivmedizinpflichtigen Patienten (Vincent et al. 1996). Er kann sowohl zur Diagnose einer Sepsis als auch bei repetitiver Erhebung zur Bewertung des Verlaufs einer Sepsis herangezogen werden (Vincent et al. 1998). Ein höherer Punktwert entspricht einer schlechteren Funktion eines oder mehrerer Organsysteme. Für sechs Organfunktionen – Atmung, Vigilanz, Herzkreislaufsystem, Gerinnung, Leberfunktion und Nierenfunktion – werden jeweils 0 – 4 Punkte vergeben. Eine detaillierte Aufschlüsselung der Bewertungskriterien kann Tabelle 1 entnommen werden.

Tabelle 1: *Sepsis-related Organ Failure Assessment* (SOFA) Score (modifiziert nach Vincent et al. 1996). Creative commons license CC BY-NC.

	1 Punkt	2 Punkte	3 Punkte	4 Punkte
Lunge paO ₂ /FiO ₂ [mmHg]	< 400	< 300	< 200 bei Beatmung	< 100 bei Beatmung
Gerinnung Thrombozyten [1000/mm ³]	< 150	< 100	< 50	< 20
Leber Bilirubin [mg/dl]	1,2 – 1,9	2,0 – 5,9	6,0 – 11,9	> 12,0
Herz-Kreislaufsystem [µg/kg x min]	MAP < 70 mmHg	Dopamin ≤ 5 oder Dobutamin (jede Dosis ≥ 1 h)	Dopamin > 5 oder (Nor-) Adrenalin ≤ 0,1	Dopamin > 15 oder (Nor-) Adrenalin > 0,1
Zentrales Nervensystem [<i>Glasgow Coma Scale</i>]	13 – 14	10 – 12	6 – 9	< 6
Niere Kreatinin [mg/dl] oder Urinausscheidung	1,2 – 1,9	2,0 – 3,4	3,5 – 4,9 oder < 500 ml/Tag	> 5,0 oder < 200 ml/Tag

FiO₂ = inspiratorische Sauerstoff-Konzentration; MAP = mittlerer arterieller Blutdruck; paO₂ = arterieller Sauerstoff-Partialdruck

Zur Erfassung des SOFA-Scores werden das Serum-Kreatinin, die Serum-Bilirubin-Konzentration und die Thrombozyten-Anzahl im Labor bestimmt. Der Blutdruck, der *Glasgow Coma Scale* (GCS) und der Horowitz-Index werden ebenfalls erfasst. Der GCS ist ein einfaches, drei Kategorien umfassendes Instrument zur quantitativen Erfassung von Bewusstseinsstörungen (Teasdale und Jennett 1974). Der Horowitz-Index (Oxygenierungsindex nach Horowitz) entspricht dem Quotienten aus dem arteriellen Sauerstoff-Partialdruck und der inspiratorischen Sauerstoff-Konzentration und erfasst die Lungenfunktion. Maximal können beim SOFA-Score 24 Punkte erreicht werden. Die Verwendung des SOFA-Scores kann dazu beitragen, septische Patienten frühzeitig zu erkennen (Singer et al. 2016). Höhere SOFA-Score-Werte gehen mit einer erhöhten Letalität einher (Vincent et al. 1998). Bereits eine milde Organdysfunktion mit einem SOFA-Score-Anstieg von zwei Punkten erhöht das Risiko, im Krankenhaus zu versterben. Bei hospitalisierten Patienten mit einem vermuteten Infekt steigert eine solche Zunahme das Risiko zu versterben um 10 % (Singer et al. 2016). Bei der Überprüfung der Eignung des SOFA-Scores als klinisches Diagnosewerkzeug erwies sich eine SOFA-Score-Verschlechterung um zwei Punkte im Vergleich zu den SIRS-Kriterien als besserer Prädiktor für die Krankenhaussterblichkeit (Seymour et al. 2016; Raith et al. 2017). Die seit 2016 verwendete Sepsis-Definition wurde durch die Untersuchung von Seymour an 700.000 Patienten validiert (Seymour et al. 2016).

Ein weiteres klinisches Klassifikationssystem ist der *Acute Physiology And Chronic Health Evaluation* (APACHE-II) Score. Dieser erlaubt eine Vorhersage über die Wahrscheinlichkeit

eines Patienten während der intensivmedizinischen Behandlung zu versterben. Es werden Punkte zwischen 0 und 71 vergeben. Erfasst werden (1) der körperliche Zustand des Patienten anhand von Vitalparametern, Laborwerte und der GCS, (2) das Alter des Patienten und (3) vorbestehende chronische Erkrankungen und Operationen. Für die aktuelle Beurteilung des Patienten wird in jeder Kategorie der schlechteste Wert der letzten 24 Stunden gewertet (Knaus et al. 1985).

1.1.2 Epidemiologische Aspekte der Sepsis

Epidemiologische Daten können genutzt werden, um die Relevanz der Erkrankung einzuordnen. In Deutschland versterben 60.000 Menschen pro Jahr an einer schweren Sepsis. Damit stellt die Sepsis nach der koronaren Herzkrankheit (KHK) und Myokardinfarkten die dritthäufigste Todesursache dar (Moerer und Quintel 2009). Laut Schätzungen entwickeln jährlich 15 – 19 Millionen Menschen weltweit eine Sepsis (Adhikari et al. 2010); andere Autoren gehen von 31,5 Millionen Sepsis-Fällen und 19,4 Millionen Fällen schwerer Sepsis sowie von 5,3 Millionen Sepsis-bedingten Todesfällen aus (Fleischmann et al. 2015). Männer sind häufiger betroffen (Esper et al. 2006). Detaillierte epidemiologische Daten wurden für die USA und Deutschland erhoben. 1995 erkrankten in den USA mehr als 750.000 Menschen an einer Infektion in Kombination mit einem akuten Organversagen. Die Kosten für die Behandlung beliefen sich pro Fall auf durchschnittlich 22.000 US-Dollar und damit jährlich insgesamt auf 16,7 Milliarden US-Dollar (Angus et al. 2001). 2011 lagen die Kosten bei über 20 Milliarden US-Dollar (Torio und Andrews 2013). Neben den Aufwendungen für die Akuttherapie einer Sepsis entstehen auch Kosten durch Langzeitfolgen. Laut einer Studie nahm bei älteren Patienten nach überstandener Sepsis die Prävalenz kognitiver Beeinträchtigungen um 10 % zu; weiter traten vermehrt funktionale Behinderungen, die mit einer Einschränkung der Unabhängigkeit einhergingen, auf (Iwashyna et al. 2010). 2003 wurden in Deutschland die Punktprävalenz und Mortalität von Patienten, die auf Intensivstationen behandelt wurden, für Sepsis oder schwere Sepsis (insgesamt n = 3877) untersucht. Eine schwere Sepsis war zum Zeitpunkt der Erhebung der Daten als Sepsis-bedingte Organdysfunktion oder Gewebeminderperfusion infolge einer Infektion definiert (Dellinger et al. 2013). Die Punktprävalenz betrug für die Sepsis 12,4 % und für die schwere Sepsis oder einen septischen Schock 11 %. Septische Patienten verblieben durchschnittlich 12 – 19 Tagen auf einer Intensivstation. Basierend auf diesen Daten erkrankten in Deutschland jährlich 76 – 110 Patienten pro 100.000 erwachsener Einwohner an einer schweren Sepsis; dies entspricht 52.000 – 75.000 Fällen pro Jahr (Engel et al. 2007).

In der von der *Harvard School of Public Health*, der Weltgesundheitsorganisation und der Weltbank im Jahr 1992 gegründeten Datenbank *Global Burden of Disease* werden Informationen über Todesfälle, Krankheiten und Risikofaktoren zusammengetragen. Rudd et al. nutzten diese Datenbank, obwohl das Sepsis-Syndrom hier nicht als eigene Erkrankung geführt wird, zur Abschätzung der Häufigkeit von Sepsis-Erkrankungen und assoziierten

Sterbefällen zwischen 1990 und 2017. Zur Quantifizierung der Sepsis-bedingten Todesfälle werteten sie die Daten der *Global Burden of Disease*-Datenbank anhand der *International Classification of Diseases* (ICD) aus und fassten Patienten mit Sepsis und Patienten mit einer Infektion plus Organdysfunktion zusammen. Danach traten 2017 weltweit 48,9 Millionen Sepsis-Fälle und elf Millionen Sepsis-assoziierte Todesfälle auf; dies entspricht 19,7 % aller Todesfälle weltweit (Rudd et al. 2020).

Aufgrund der epidemiologischen Relevanz forderte eine australische Wissenschaftlerin bereits 2008, Sepsis als Problem für die Volksgesundheit einzustufen (Ibrahim 2008).

1.1.3 Pathophysiologie, Symptome und Klinik der Sepsis

Seit 2016 wird die Sepsis als eine durch eine fehlregulierte Immunreaktion auf eine Infektion verursachte lebensbedrohliche Organdysfunktion definiert. Daher ist die Sepsis eher als ein Syndrom als eine spezifische Krankheit einzustufen (Singer et al. 2016). Veränderungen im zellulären Metabolismus spielen für die Pathophysiologie der Sepsis und anderer entzündlicher Systemerkrankungen eine bedeutende Rolle (Singer 2008). Der Begriff Infektion beschreibt das Eindringen eines (potentiell) pathogenen Erregers in einen Wirt (Levy et al. 2003). Die durch die fehlregulierte Immunantwort (siehe Kapitel 1.2.1) ausgelöste Organdysfunktion ist variabel. Die leichten bis schweren Verläufe betreffen ein oder mehrere Organsysteme und können sich bis zum Multiorganversagen steigern (Angus und Van der Poll 2013; Singer et al. 2016; Rhodes et al. 2017). Eine Auswertung von Sepsis-Patienten in US-amerikanischen Krankenhäusern zwischen 1979 und 2003 zum Infektfokus ergab, dass bei 33 % der Fälle ein respiratorischer Infekt und in 32 % der Fälle ein Infekt des urogenitalen Traktes vorlag. Bei Männern war die Lunge häufiger betroffen (36 % vs. 29 %), bei Frauen häufiger der Urogenitaltrakt (35 % vs. 27 %) (Esper et al. 2006).

Die klassischen Entzündungszeichen *Dolor*, *Rubor*, *Tumor*, *Calor* und *Functio laesa* werden der Diagnose Sepsis nicht gerecht. Im klinischen Alltag ist es insbesondere bei schwerkranken, multimorbiden Patienten mitunter schwierig, einen septischen Patienten zu identifizieren. Generell können Sepsis-Patienten einen reduzierten Allgemeinzustand mit Entzündungszeichen, wie Fieber, Tachykardie oder Schüttelfrost aufweisen oder je nach betroffenem Organsystem Meningismus, Dysurie oder Wundinfektionen (Vincent 2016). Oftmals sind bei septischen Patienten mehrere Organsysteme betroffen. Dieses *multiple organ dysfunction syndrome* (MODS) geht mit einer hohen Sterblichkeit einher (Metnitz et al. 2001).

Die eine Sepsis kennzeichnende akut lebensbedrohliche, aber potentiell reversible Organdysfunktion kann alle Organsysteme betreffen. Die Schäden werden durch immunologische, metabolische, endokrine oder vaskuläre Ursachen hervorgerufen (Ziesmann und Marshall 2018). Eine Voraussetzung für die Reversibilität der Organschäden ist ein fehlender signifikanter Zelluntergang (Hotchkiss et al. 1999). Die Sepsis-assoziierte Störung der Endothelfunktion und Mikrozirkulation hat eine Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Veränderung des zellulären Metabolismus zur Folge

(Deutschman und Tracey 2014; Pool et al. 2018). Das Herzkreislaufsystem ist über eine Hypotension und hämodynamische Instabilität beteiligt. Bei einer Abnahme des Gefäßdrucks und einer verringerten Auswurfleistung des Herzens können Patienten einen Schock entwickeln. Hämodynamisch relevante Parameter sind eine erhöhte Permeabilität der Kapillaren und Mikrothromben, ausgelöst durch Verklumpung von Thrombozyten und Leukozyten. Die Zirkulationsstörung resultiert in einem Gewebeödem und einer Unterversorgung des Gewebes (Ziesmann und Marshall 2018). Bei einer Involvierung der Blutgerinnung ist ein Übergang in eine disseminierte intravasale Gerinnung (DIC) möglich (Marshall 2001). In der Lunge kann sich eine Sepsis als *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS) mit einer Verschlechterung der Oxygenierung und einer daraus resultierenden Hypoxie manifestieren. Ein ARDS ist durch bilaterale pulmonale Infiltrate ohne kardiale Ursache und eine sich rasch verschlechternde Lungenfunktion charakterisiert. Durch eine Fehlfunktion des Endothels entwickelt sich ein Lungenödem; die Patienten werden potentiell beatmungspflichtig (Beal und Cerra 1994; Henderson et al. 2017). Ein akutes Nierenversagen mit Oligurie, Anurie und einer Erhöhung des Kreatinin-Wertes im Serum (Kellum und Lameire 2013) und ein Lebersversagen mit Anstieg der Leberparameter (z. B. Transaminasen) und Abnahme der Lebersyntheseleistung sind ebenfalls möglich. Die hepatische Dysfunktion wurde als eigenständiger Risikofaktor für eine schlechte Prognose identifiziert (Kramer et al. 2007). Weitere Manifestationen im Gastrointestinaltrakt sind ein paralytischer Ileus, eine Pankreatitis, Cholezystitis, Cholestase und eine gastroduodenale Ulkus-Erkrankung (Beal und Cerra 1994). Weiter können neurologische Dysfunktionen auftreten. Patienten, die ein akutes Delir entwickeln, verbleiben länger auf der Intensivstation und zeigen eine erhöhte Morbidität (Klouwenberg et al. 2014). Eine weitere klinisch heterogene, neurologische Manifestation ist die septische Enzephalopathie, die von einem leichten Delir bis zum tiefen Koma reichen kann, wobei schwere Fälle mit dem Auftreten einer *Critical illness polyneuropathy* (CIP) assoziiert sind (Gofton und Young 2012). Allgemein ist die CIP eine häufige Komplikation bei intensivmedizinisch versorgten Patienten (Zhang et al. 2014).

Zu den Spätschäden bei Patienten nach überstandener Sepsis zählen persistierende Entzündungen, die die Entstehung chronischer Erkrankungen und eine erneute Sepsis begünstigen (Yende et al. 2008). Patienten weisen nach einer Sepsis häufig neue Einschränkungen im Alltagsleben sowie kognitive Einbußen auf und nehmen vermehrt Gesundheitsleistungen in Anspruch (Iwashyna et al. 2010; Guirgis et al. 2016).

Eine frühzeitige Diagnose einer Sepsis erlaubt es, rechtzeitig eine geeignete Therapie einzuleiten. Ein rascher Therapiebeginn verbessert das Outcome der Patienten und reduziert die Mortalität (Bai et al. 2014; Ferrer et al. 2014; Rhodes et al. 2017). In der Klinik ist eine frühzeitige Diagnosestellung nicht immer gegeben. Bei einer Befragung von 1058 intensivmedizinisch tätigen Ärzten waren 83 % der Meinung, dass eine Sepsis häufig übersehen wird (Poeze et al. 2004).

1.1.4 Therapieansätze bei Sepsis

Die Therapie einer Sepsis berücksichtigt pathophysiologische und klinische Aspekte; eine spezifische Anti-Sepsis-Therapie gibt es aber derzeit nicht (Cohen et al. 2015). Allgemein werden kausale, supportive und adjuvante Therapieansätze unterschieden (Rhodes et al. 2017). Die S3-Leitlinie Sepsis – Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge – der Deutschen Sepsis Gesellschaft sieht neben der anti-mikrobiellen Therapie und einer Fokuskontrolle eine umfangreiche supportive Therapie vor. Diese Empfehlung entspricht der internationalen Leitlinie *Surviving Sepsis Campaign* (Rhodes et al. 2017; Brunkhorst et al. 2018). Die anti-mikrobielle Therapie sollte sofort nach Diagnosestellung erfolgen, was erneut die Dringlichkeit einer frühen Identifizierung septischer Patienten unterstreicht. Eine effektive, frühzeitig begonnene antibiotische Therapie verringert die Mortalität bei Patienten mit septischem Schock (Ferrer et al. 2014); innerhalb der ersten 6 Stunden nach Diagnosestellung sinkt die Überlebensrate ohne Antibiotikatherapie stündlich um 7,6 %. Weiter stellt eine frühe antibiotische Therapie einen starken Prädiktator für das Outcome eines Patienten dar (Kumar et al. 2006; Ferrer et al. 2014) und verringert die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation (Zhang et al. 2015) sowie die Nieren- (Bagshaw et al. 2009) und Lungenschädigung (Iscimen et al. 2008). Leitliniengerecht sollte diese kalkulierte Therapie im Verlauf durch eine empirische Therapie ersetzt werden (Guo et al. 2016). Neben einer Erreger-spezifischen antibiotischen Therapie sollte eine Fokussuche und -kontrolle erfolgen. Mögliche Fokusse sind Fremdmaterial, Abszesse, Empyeme, Ischämien und Nekrosen. Die Bedeutung der Fokuskontrolle wird beispielsweise daran deutlich, dass eine frühzeitige operative Versorgung einer Sepsis-auslösenden Darmperforation das Outcome der Patienten verbessert (Azuhata et al. 2014). Weitere Daten belegen einen positiven Effekt der operativen oder interventionellen Fokussanierung binnen der ersten 6 Stunden (Bloos et al. 2014). Zu den Therapiegrundsätzen gehören das Flüssigkeitsmanagement mit dem Ziel der Euvolämie; zur Stabilisierung der Hämodynamik werden vasoaktive Substanzen zur Aufrechterhaltung der Gewebepfusion und Blutprodukte verabreicht (Kumar et al. 2006; Rhodes et al. 2017). Weitere potentielle Therapiebausteine sind eine ausreichende Analgesie und Sedierung sowie organsupportive Therapien. Die Beatmung bei Patienten mit einem ARDS sollte, wie bei beatmungspflichtigen Patienten üblich, lungenprotektiv mit geringen Tidalvolumina erfolgen (Brower et al. 2000). Zu den Therapieoptionen bei einem Nierenversagen gehören Nierenersatzverfahren, Flüssigkeitsmanagement und Senkung des Blutzucker-Spiegels (Prowle et al. 2014). Ein früher enteraler Kostaufbau ist mit einer verkürzten Beatmungszeit und einer reduzierten Sterblichkeit assoziiert (Elke et al. 2014).

1.2 Sepsis und Immunsystem

1.2.1 Rolle des Immunsystems bei einer Sepsis

Bei einer Infektion reagiert ein Wirtsorganismus zunächst über die angeborene Immunantwort. Bei bakteriellen Infektionen sind daran primär neutrophile Granulozyten, Monozyten und Makrophagen beteiligt (Hoffmann et al. 1999; Medzhitov und Janeway 2000). Diese Zellen verfügen über *pattern recognition receptors* (PRR), die bei Kontakt mit den Oberflächenmolekülen von Bakterien eine Entzündungsreaktion initiieren (Aderem und Ulevitch 2000; Beutler 2000). Pathophysiologisch spielen neutrophile Granulozyten auch bei der Sepsis eine Rolle, da die von ihnen gegen Krankheitserreger freigesetzten Oxidantien und Proteasen auch Organe schädigen können (Hotchkiss und Karl 2003) und zur Entwicklung eines ARDS beitragen (Kollef und Schuster 1995).

Die Immunreaktion auf einen Erreger unterliegt einer exakten Regulierung. Nach der Detektion eines Erregers werden zunächst entzündungsfördernde und später inhibierende Zytokine ausgeschüttet. Eine überschießende Immunantwort führt zur Schädigung von Geweben oder Organsystemen; bei einer zu starken Inhibition der Immunantwort werden Erreger dagegen nicht effektiv beseitigt. Zu den entzündungsfördernden Zytokinen gehören TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 und *macrophage migration inhibitory factor* (MIF) und zu den entzündungshemmenden Zytokinen IL-10 und der IL-1-Rezeptorantagonist IL-1RA (Arcaroli et al. 2005).

Der Verlauf einer Sepsis lässt sich in zwei Phasen einteilen. Während der ersten Phase kommt es Zytokin-vermittelt zu einer hyperinflammatorischen Immunreaktion, während der zweiten Phase dagegen zu einer Immunsuppression (Bone et al. 1997; Boomer et al. 2014). Bei einer Überaktivität des Immunsystems werden verschiedene Signalwege induziert, die zu einer unkontrollierten Immunantwort mit extrem erhöhten Zytokin-Konzentrationen (z. B. TNF, IL-1) führen (Hotchkiss und Karl 2003). Während der Erreger mit dem Wirt interagiert, laufen zeitgleich pro- und anti-inflammatorische Prozesse ab. Teilweise nutzen Erreger die Vulnerabilität des Wirts aus, um sich weiter auszubreiten (van der Poll und Opal 2008). Bei einer Sepsis kann die überschießende Immunantwort zu einer Organdysfunktion bis hin zu einem Organversagen und septischen Schock führen (Cohen 2002; Delano und Ward 2016). Die Inflammationsphase stellt eine hohe Belastung für den Patienten und sein Immunsystem dar. In der zweiten Phase ist das Immunsystem aufgrund von Erschöpfung oder verstärkten anti-inflammatorischen Prozessen nicht mehr in der Lage, adäquat auf den Erreger zu reagieren (Boomer et al. 2012). Diese zweite Phase der Immunsuppression wird auch als kompensatorisches anti-inflammatorisches Response-Syndrom bezeichnet. Laut diesem 1997 von Bone et al. entwickelten Konzept setzt der Wirt vermehrt anti-inflammatorische Mediatoren frei, um nach der Immunreaktion wieder ein Gleichgewicht herzustellen. Die Immunsuppression führt zu einer erhöhten Vulnerabilität des Patienten gegen allgemeine oder nosokomiale Infektionen (Winters et al. 2010; Boomer et al. 2011;

Boomer et al. 2012). Nach Hotchkiss et al. treten die meisten Todesfälle in der Phase der prolongierten Immunsuppression auf. Ein möglicher Ansatz zur Vermeidung dieser Immundefizienz ist eine Inhibition der Immunantwort in der hyperinflammatorischen Phase der Sepsis (Hotchkiss und Karl 2003). Möglicherweise führt aber auch eine Überforderung des Immunsystems zu einer weniger effektiven Immunantwort. Post-mortem Analysen an auf der Intensivstation verstorbenen septischen Patienten belegen eine Persistenz septischer Fokuse und geringere Zytokin-Spiegel (Hotchkiss et al. 2013).

Einigen Autoren zufolge können immunologische Prozesse die Pathophysiologie der Sepsis nicht hinreichend erklären (Deutschman und Tracey 2014). Vielmehr sollte bei den Untersuchungen die Interaktion des Wirtsorganismus mit dem Krankheitserreger und die daraus resultierende Dysfunktion von Organen, Zellen und des Metabolismus im Fokus stehen (Colonna und Facchetti 2003; Singer 2008; Angus und Van der Poll 2013). Verschiedene Untersuchungen belegen die Störung des metabolischen und energetischen Gleichgewichts bei einer Sepsis (Lee und Hüttemann 2014; Pravda 2014).

1.2.2 *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1 (TREM-1)*

Die Aktivierung von TREM-1 spielt eine Rolle bei pro-inflammatorischen Reaktionen des Immunsystems (Bouchon et al. 2000; Bouchon et al. 2001; Bleharski et al. 2003; Colonna und Facchetti 2003; Gibot et al. 2006; Haselmayer et al. 2009); dazu zählen die Ausschüttung von pro-inflammatorischen Zytokinen, Chemokinen, reaktiver Sauerstoffspezies, die Degranulation von neutrophilen Granulozyten und die Phagozytose (Tessarz und Cerwenka 2008). Die durch die Aktivierung von TREM-1 ausgelösten intrazellulären Signalkaskaden sind in Abbildung 1 dargestellt.

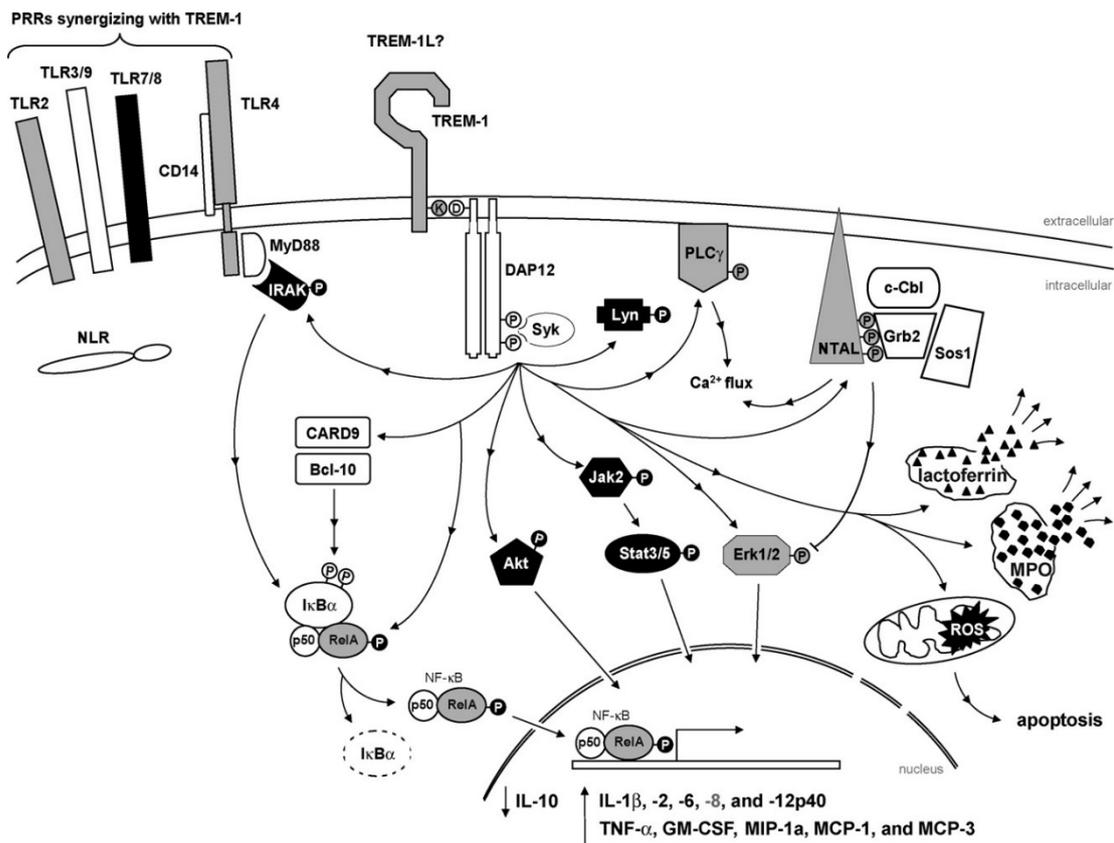


Abbildung 1: *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) Signalwege in Monozyten (weiß), neutrophilen Granulozyten (schwarz) und in beiden Zellarten (grau) (Tessarz und Cerwenka 2008). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.

Das 30 kDa große Glykoprotein TREM-1 gehört zur Immunglobulin-(Ig)-Superfamilie. Das Transmembranprotein besteht aus einer Ektodomäne, einer IgV-artigen Domäne, einem Transmembranabschnitt und einem zytoplasmatischen Anteil. TREM-1 steht mit dem Tyrosinkinase-bindenden Adapterprotein *DNAX-activating protein of 12 kDa* (DAP12) in Kontakt, um intrazellulär sein aktivierendes Signal zu vermitteln (Bouchon et al. 2000). TREM-1 wird von späten Zellstadien der myeloischen Reihe exprimiert. Dazu zählen periphere *Cluster of differentiation* (CD)14(+) Monozyten (Gingras et al. 2002) und neutrophile Granulozyten. TREM-1 ist an der Aktivierung dieser Zellen und damit an der inflammatorischen Immunantwort beteiligt (Bouchon et al. 2000). Beim Kontakt des Organismus mit mikrobiellen Erregern erhöht sich die TREM-1-Expression (Bouchon et al. 2000). Granulozyten und Monozyten spielen als Teil des angeborenen Immunsystems bei der Bekämpfung von Krankheitserregern durch Phagozytose und Sekretion von Zytokinen eine entscheidende Rolle (Kawamoto und Minato 2004). Die spezifischen Liganden, die zur Aktivierung von TREM-1 führen, wurden noch nicht identifiziert (Allcock et al. 2003; Tessarz und Cerwenka 2008). Bakterielle Lipopolysaccharide (LPS) führen aber zu einer vermehrten Expression von TREM-1 (Suh et al. 2017). LPS gehören zu den *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMP). Diese aus Zucker- und Lipideinheiten bestehenden Moleküle befinden sich auf der Oberfläche von gram-negativen Bakterien (Wang und Quinn

2010) und werden vom angeborenen Immunsystem über PRR erkannt. Zu den PRRs zählen neben C-Typ-Lektin-Rezeptoren, *Retinoic Acid Inducible Gene 1-like* Rezeptoren, *Toll-like*-Rezeptoren (TLR) und *Nucleotide-binding Oligomerization Domain (Nod)-like receptors* (NLR) (Bianchi 2007). TREM-1 wirkt bei der Aktivierung der Entzündungsreaktion synergetisch mit TLR (Kelker et al. 2004; Klesney-Tait et al. 2006), die extrazelluläre LPS erkennen (Medzhitov und Janeway 2000) und mit NLR, die nach Phagozytose mit intrazellulären bakteriellen Peptidoglycane als PAMP interagieren. Intrazellulär wirkt TREM-1 über eine Aktivierung des *nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells*-(NF- κ B)-Signalwegs an der Zytokinproduktion mit (Netea et al. 2006). Eine Aktivierung von TREM-1 führt zur Ausschüttung von IL-8, Myeloperoxidase, *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) und TNF α . Weiter erfolgt die Induktion der Degranulation von neutrophilen Granulozyten, die Mobilisierung von intrazellulärem Kalzium und die Tyrosin-Phosphorylierung der *Extracellular signal-related-kinase 1* und 2 und der Phospholipase C-gamma. Die Aktivierung der Monozyten und neutrophilen Granulozyten wird über den Signaladapter DAP12 vermittelt (Bouchon et al. 2000; Klesney-Tait et al. 2006). Die Degranulation führt zu einer Freisetzung von IL-8 und reaktiven Sauerstoffspezies sowie zur Phagozytose (Radsak et al. 2004). IL-8 zählt wie TNF α zu den pro-inflammatorischen Zytokinen (Arcaroli et al. 2005). Die Aktivierung von TREM-1 verlängert das Überleben von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen (Bouchon et al. 2001). TREM-1 ist an der Immunpathophysiologie der Sepsis beteiligt (Cohen 2001).

Untersuchungen an Mäusen deuten an, dass eine TREM-1-Blockade bzw. ein -Mangel zu einem milderen Krankheitsverlauf einer Sepsis ohne Einbußen bei der Bekämpfung der Erreger führt. Dieser Befund spricht dafür, dass TREM-1 eine überschießende Immunantwort vermitteln könnte (Weber et al. 2014).

Lösliches TREM-1 (sTREM-1) besitzt anders als das membranständige TREM-1 keine Transmembranregion und entsteht durch alternatives *Splicing*. Das sTREM-1 wird von neutrophilen Granulozyten bei Kontakt mit LPS synthetisiert (Mahdy et al. 2006). Erhöhte sTREM-1-Konzentrationen lassen sich nach Aktivierung von TREM-1 bei Infektionen in Körperflüssigkeiten (z. B. Pleuraflüssigkeit, bronchoalveoläre Lavage, Blut) nachweisen (Bouchon et al. 2001; Gibot et al. 2004b; Liu et al. 2007; Su et al. 2012). Über die Messung von sTREM-1 lassen sich daher bakterielle Infektionen oder Pilzinfektionen diagnostizieren (Gibot und Cravoisy 2004). Da sTREM-1 möglicherweise mit der membranständigen Form um denselben Liganden konkurriert, könnte es eine TREM-1 vermittelte Überaktivität des Immunsystems verhindern (Gingras et al. 2002; Gibot et al. 2004a).

1.3 Sepsis und Genetik

1.3.1 Sepsis und Einzelnukleotid-Polymorphismen

Nach der Darstellung der Pathophysiologie der Sepsis und der Rolle des Immunsystems bei dieser Erkrankung soll im Folgenden auf die Bedeutung von *Single Nukleotide Polymorphismen* (SNP) mit dem Fokus auf den in der vorliegenden Arbeit untersuchten TREM-1-SNP rs2234237 eingegangen werden. Bei einem SNP handelt es sich um eine Variation eines Basenpaares innerhalb eines komplementären DNA-Stranges.

Die Sepsis ist ein komplexes polygenetisches Syndrom, bei dem verschiedene SNP eine Rolle spielen. Genetische Variationen können zur Identifikation von Patienten mit einem höheren Risiko für einen schweren oder tödlichen Krankheitsverlauf genutzt werden (Hotchkiss und Karl 2003; Arcaroli et al. 2005). Dabei sind möglicherweise Polymorphismen in Genen, die für die angeborene Immunität eine Rolle spielen, von besonderer Bedeutung (Arcaroli et al. 2005). Unsere Arbeitsgruppe identifizierte einige SNPs, die mit dem Verlauf und dem Ausgang einer Sepsis assoziiert sind (Mansur et al. 2014; Mansur et al. 2015; Mewes et al. 2018; Mewes et al. 2019). In einer Übersichtsarbeit über den TREM-1/DAP12-Signalweg wird auf die Bedeutung von TREM-1-Polymorphismen und Genvarianten bei infektiösen Erkrankungen hingewiesen (Tessarz und Cerwenka 2008).

In der vorliegenden Arbeit wurde der funktionelle Polymorphismus TREM-1 rs2234237 untersucht.

1.3.2 Genetischer Polymorphismus TREM-1 rs2234237

Die genetische Information eines Menschen ist in seiner DNA gespeichert. Die DNA besteht aus zwei umeinander gewundenen und zueinander komplementären Nukleotidsträngen (Doppelhelix). Jeder Nukleotidstrang entspricht einer linearen Abfolge von Nukleotiden, die sich aus einer Pentose, einem Phosphatrest und einer Base (Thymin, Adenin, Guanin, Cytosin) zusammensetzen. Die genetische Information wird über die Abfolge der Basenpaare kodiert. Das menschliche Genom wird von 3 Milliarden Basenpaaren gebildet, die sich auf 23 Chromosomen verteilen. Das humane Genom enthält 20.000 – 25.000 Protein-codierende Gene (International Human Genome Sequencing Consortium 2004). Varianten in der Basenabfolge eines Gens werden als Allele bezeichnet. Wenn diese Abweichung auf ein Basenpaar beschränkt ist, spricht man von einem SNP. Für das menschliche Genom sind 15 Millionen SNPs beschrieben (Durbin et al. 2010). Als diploider Organismus besitzen Menschen einen doppelten Chromosomensatz und damit 46 Chromosomen. Daher liegen die meisten Gene in doppelter Ausführung vor. Sind die Allele eines Gens auf beiden Chromosomen identisch, spricht man von Homozygotie, bei zwei unterschiedlichen Allelen von Heterozygotie.

Auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 (6p21.1) liegt eine Genregion, die für verschiedene Proteine der Ig-Superfamilie mit aktivierender oder hemmender Funktion kodiert. Dazu zählen neben TREM-1, TREM-2, NKp44 und *TREM-like transcript* (TLT)-1 bis TLT-5 (Allcock et al. 2003).

Das TREM-1-Gen kodiert für ein 30-kDa Glykoprotein (Bouchon et al. 2000). Bei der TREM-1-Variante rs2234237 liegt der SNP im zweiten Exon. Der Ersatz der Base Thymin durch Adenin führt zu einer Missense-Mutation und daher zu einer Änderung der Aminosäureabfolge (Ser25Thr). Es handelt sich daher um eine nicht-synonyme Variante. Es ist davon auszugehen, dass jeder Mensch zwischen 9.000 und 11.000 solcher nicht-synonymen Varianten besitzt (Gonzaga-Jauregui et al. 2012). Für den untersuchten TREM-1-SNP können bei einem diploiden Chromosomensatz drei Kombinationen vorkommen – die homozygoten Konstellationen TT und AA sowie die heterozygote Konstellation AT.

In Datenbanken (z. B. *Genome Aggregation Database*) werden große Mengen an DNA-Sequenzdaten gesammelt, wodurch die Häufigkeit des Auftretens von SNPs ermittelt werden kann. In 132.326 untersuchten Proben eines europäischen Kollektivs kam das TREM-1-Allel mit Thymin am häufigsten vor. Für das seltenere Allel TREM-1 rs2234237 SNP mit Adenin betrug die *Minor Allele Frequency* (MAF) 0,101 (rs2234237 RefSNP Report - dbSNP - NCBI).

Polymorphismen im TREM-1-Gen beeinflussen die biologische Funktion des TREM-1-Signalwegs. So konnten verschiedene Studien bei unterschiedlichen Studienkollektiven zeigen, dass Änderungen in der Abfolge der Basenpaare Krankheitsverläufe beeinflussen können. Im Rahmen einer Malaria-Studie wiesen T-Allel-Träger höhere Plasmaspiegel an sTREM-1 und schwerwiegendere Verläufe der Erkrankung auf (Adukpo et al. 2016). Wissenschaftliche Befunde deuten an, dass es bei Malaria ähnlich wie bei einer Sepsis zu einer dysregulierten Immunreaktion kommt (Akanmori et al. 2000). Laut einer Studie an einem russischen Patientenkollektiv beeinflusst der TREM-1 rs2234237 Genotyp auch das Risiko, eine KHK zu entwickeln. Der KHK liegt ein chronischer Entzündungsprozess mit Beteiligung des angeborenen und erworbenen Immunsystems zugrunde (Golovkin et al. 2014). Eine koreanische Arbeitsgruppe konnte zudem zeigen, dass der TREM-1 rs2234237 Genotyp beim Morbus Behçet, einer Vaskulitis der kleinen Gefäße, die Beteiligung des Gastrointestinaltraktes und Hautmanifestationen fördert. Folglich stieg auch die Häufigkeit der Notwendigkeit der Einnahme von Azathioprin als Immunsuppressivum (Jung et al. 2011). Weiter entwickelten T-Allel-Träger des untersuchten SNP rs2234237, die wegen einer Verbrennung intensivmedizinisch behandelt wurden, häufiger eine beatmungsassoziierte Pneumonie (Rivera-Chávez et al. 2013).

In einem Patientenkollektiv mit Han-Chinesen bestand eine Assoziation zwischen dem TREM-1 rs2234237 Genotyp und dem Verlauf einer Sepsis-Erkrankung. Die an der Sepsis Verstorbenen zeigten unabhängig vom Genotyp höhere sTREM-1-Spiegel. Dennoch beeinflusste der TREM-1 rs2234237 Genotyp die Prognose und den Krankheitsverlauf signifikant. Patienten mit einem AA-Genotyp zeigten eine niedrigere Mortalität. Den

Autoren zufolge scheint das A-Allel einen protektiven Einfluss auf den Verlauf einer Sepsis zu haben, wohingegen das T-Allel als Risikofaktor wirkt. Die Patienten mit einem TT-Genotyp zeigten eine höhere 28-Tagesmortalität als Patienten mit einem AT- oder AA-Genotyp. Die Regressionsanalyse bestätigte den rs2234237 Genotyp als Risikofaktor (Su et al. 2012).

1.4 Fragestellung.

Immer mehr Indizien sprechen für einen Einfluss genetischer Faktoren auf das Auftreten, den Verlauf und das Outcome einer Sepsis. Ein derartiger Effekt könnte auch die Varianz septischer Krankheitsverläufe erklären. Genetische Variationen können aber auch genutzt werden, die Pathophysiologie zu verstehen und Ansatzpunkte für zielgerichtete Therapien zu identifizieren (Holmes et al. 2003). Gewichtet man die vorhandenen Erkenntnisse über Sepsis, wie die Pathophysiologie, die Inzidenz, die hohe Mortalität oder den häufig schweren Verlauf mit Langzeitschäden, so muss daraus ein hohes Interesse, das Krankheitsbild zu verstehen und Therapieansätze zu entwickeln, resultieren. Insbesondere, wenn lediglich 53% von 1004 befragten Bundesbürgern angaben, den Begriff Sepsis schon einmal gehört zu haben (Rubulotta et al. 2009).

Studien (siehe Kapitel 1.3.2) belegen eine mögliche Assoziation zwischen dem *TREM-1* rs2234237 Genotyp und verschiedenen entzündlichen Erkrankungen. Die Ergebnisse dieser Studien sind jedoch nur eingeschränkt auf das Krankheitsbild einer Sepsis übertragbar. Folglich sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht werden, welche Auswirkungen der *TREM-1* rs2234237 Genotyp bei kaukasischen Patienten auf den Krankheitsverlauf und den Ausgang einer Sepsis hat.

Im Mausmodell beeinflusst ein Eingriff in den *TREM-1*-Signalweg das Überleben bei einer Sepsis. Der *TREM-1* Signalweg verstärkt als Reaktion auf eine bakterielle Infektion die Entzündungsreaktion. Eine Blockade von *TREM-1* senkt die Plasmaspiegel von $\text{TNF}\alpha$ und $\text{IL-1}\beta$ sowie von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen und schützt Mäuse vor einem LPS-induzierten Schock bzw. vor einer durch *Escherichia coli* ausgelösten bakteriellen Sepsis (Bouchon et al. 2001). In einem weiteren Mausmodell führte eine Aktivierung von *TREM-1* durch LPS zu erhöhten pro-inflammatorischen Zytokin-Spiegeln und zu einer erhöhten Mortalität, was wiederum die Rolle der Überaktivierung von *TREM-1* bei der Entstehung einer Sepsis und eines septischen Schocks unterstreicht (Gibot et al. 2004a). Die Ergebnisse der Tiermodelle und die Beeinflussung des Überlebens durch den *TREM-1* rs2234237 Genotyp in vorherigen Untersuchungen in anderen Kohorten (Su et al. 2012) führten zu der Hypothese, dass TT-Homozygote im SNP rs2234237 möglicherweise eine geringere Überlebensrate und einen schwereren Krankheitsverlauf aufweisen als A-Allel-Träger.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, den Einfluss einer genetischen Variante der angeborenen Immunität auf den Verlauf und die Krankheitsschwere bei einer Sepsis-Erkrankung zu untersuchen. Erkenntnisse zum Einfluss genetischer Variationen auf die Pathophysiologie der Sepsis könnten langfristig zur Entwicklung neuer Therapieansätze, zur frühzeitigen Identifikation von Patienten mit dem Risiko für einen schweren Krankheitsverlauf und zur Reduktion der Mortalität führen. Um zum Verständnis der Pathophysiologie der Sepsis beizutragen, wurde eine genetisch-epidemiologische Assoziationsstudie durchgeführt. Als primärer Endpunkt wurde die 90-Tagesmortalität

gewählt; die 28-Tagesmortalität wurde ebenfalls erfasst. Weiter wurden die Schwere des Krankheitsverlaufes und die Organdysfunktion untersucht. Ziel der Arbeit war es, zum Verständnis der Pathophysiologie der Sepsis beizutragen und über eine mögliche Beeinflussung der Schwere der Erkrankung und des Überlebens durch einen SNP weitere Erkenntnisse zu sammeln, um die Bedeutung genetischer Variationen des TREM-1-Gens zu validieren.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Substanzen

Tabelle 2: Substanzen mit Hersteller

Substanz	Hersteller
Ampuwa®	Fresenius Kabi Deutschland Bad Homburg
Bidestilliertes Wasser	eigene Herstellung in der Universitätsmedizin Göttingen
Ethanol 100 %	Merck KGaA, Darmstadt
TaqMan™ Genotyping MasterMix	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA

2.1.2 Kits und Assays

Tabelle 3: Kits und Assays mit Hersteller

Kit und Assay	Hersteller
AllPrep DNA/RNA Mini Kit	Qiagen GmbH, Hilden
EZ1 DNA Blood 350 µl Kit	Qiagen GmbH, Hilden
QIAamp® DNA Blood mini Kit	Qiagen GmbH, Hilden
TagMan™ SNP Genotyping Assay TREM-1 rs2234327 (Assay ID: C_15948162_10)	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA

2.1.4 **Gebrauchswaren**

Tabelle 4: Gebrauchswaren mit Hersteller

Gebrauchsware	Hersteller
Collection Tubes (2 ml)	Qiagen GmbH, Hilden
Disposable Filter Tips, 200 µl, 1000 µl	Qiagen GmbH, Hilden
Elution Tubes (1,5 ml)	Sarstedt, Nümbrecht
Eppendorf Uvette® 8,5 mm single sealed cuvettes	Eppendorf AG, Hamburg
Gentle Skin® Sensitive Untersuchungs- Handschuhe	Meditrade GmbH, Kiefersfelden
Micro Tips Premium 10 µl	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf
QIAcube® Rotor Adapters	Qiagen GmbH, Hilden
QIAcube® Reagent Bottles, 30 ml	Qiagen GmbH, Hilden
S-Monovette® 7,5 ml (K3 EDTA)	Sarstedt, Nümbrecht
Screw cap tube without skirted base, 2 ml	Qiagen GmbH, Hilden
Shaker adapter for 2 ml screw cap tubes	Qiagen GmbH, Hilden
Thermo Scientific™ PCR Plates, 96-Well, 384-Well, standard	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA
Plate Seals	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA
Thermo Scientific™ Absolute qPCR Plate Seals	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA
TipOne® 100 µl Bevelled Filter Tip (Sterile)	Starlab International GmbH, Hamburg
Graduated Filter Tip (Sterile)	Starlab International GmbH, Hamburg
Vorgedruckte Etiketten	AVERY Zweckforum, Toronto, Kanada

2.1.6 Geräte

Tabelle 5: Geräte mit Hersteller

Gerät	Hersteller
Applied Biosystems™ 7900HT Fast real-time PCR System	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA
Biophotometer	Eppendorf AG, Hamburg
BioRobot® EZ1 DSP Workstation	Qiagen GmbH, Hilden
Binder Standard-Inkubator	Binder, Tuttlingen
DNA Engine® Thermal Cycler PTC-200 DNA Engine Cycler	Bio-Rad Laboratories Inc., Hercules, USA
Eppendorf Multipette® Plus	Eppendorf AG, Hamburg
Eppendorf Reference® Pipette 1000, 100, 10 µl	Eppendorf AG, Hamburg
Eppendorf Research® plus, 8-Kanal, 0,5 – 10 µl	Eppendorf AG, Hamburg
Heraeus™ Multifuge™ X3R Zentrifuge	Thermo Fischer Scientific Inc. Waltham, USA
QIAcube® Connect	Qiagen GmbH, Hilden
Reagent Bottle Rack with labeling strip QIAamp® DNA	Qiagen GmbH, Hilden
QIAcube® Rotor Adapter Holder	Qiagen GmbH, Hilden
QIAcube® Shaker Rack Plug	Qiagen GmbH, Hilden
ThermoMixer® für 2 ml E-Cups	Eppendorf AG, Hamburg
Vortexmischer REXA 1R	Heidolph Instruments GMBH & Co. KG, Schwabach

2.2 Patienten

2.2.1 Patientenkollektiv

Die Daten des vorliegenden Patientenkollektivs stammten aus der GenoSep-Datenbank des Projektes „Bedeutung genetischer Polymorphismen der angeborenen Immunabwehr bei Sepsis und Organversagen“. In die Datenbank wurden Patienten aufgenommen, die während ihres Aufenthaltes auf einer Intensivstation der Universitätsmedizin Göttingen eine Sepsis entwickelten. Im Rahmen des klinisch prospektiven Studiendesigns wurden die Patienten auf der anästhesiologischen Station 0119 und der allgemein- und viszeralchirurgischen Station 1014 täglich auf das Vorhandensein der Diagnosekriterien einer Sepsis gescreent. Dazu wurde bei Patienten mit Infekt bzw. Infektverdacht täglich der SOFA-Score erhoben. Nach der Diagnose einer Sepsis wurden die Patienten bei fehlenden Ausschlusskriterien in die Studie eingeschlossen (Runzheimer et al. 2019).

Das Vorhaben (Aktenzeichen 15/1/12) wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen am 15. Januar 2012 genehmigt. Alle ethischen Grundsätze der 2008 revidierten Fassung der Deklaration von Helsinki wurden erfüllt.

Die Rekrutierung der Studienteilnehmer erfolgte ab April 2012. Septische Patienten wurden nach der jeweilig gültigen Definition in die Studie einbezogen, sofern keine Kontraindikationen vorlagen. Die Patienten wurden bis 2016 bei einem mikrobiologischen oder klinischen Nachweis einer Infektion und Erfüllen der SIRS-Kriterien eingeschlossen (Reinhart et al. 2010). Mit Veröffentlichung der Sepsis-3-Definition (Singer et al. 2016) erfolgte der Einschluss weiterer Patienten in die Studie bei Vorliegen eines Infektes oder eines Infektverdachtes und gleichzeitiger Verschlechterung des SOFA-Wertes um ≥ 2 Punkte. Da die Rekrutierung auf Intensivstationen stattfand, wurde der qSOFA-Score, der im ambulanten oder nicht intensivmedizinischen-stationären Umfeld zur Detektion von Risikopatienten genutzt wird, nicht verwendet (Singer et al. 2016). Zur Generierung eines homogenen Patientenkollektivs wurden nur kaukasische Patienten in die Studie aufgenommen.

Zu den Ausschlusskriterien zählte ein Alter < 18 Jahren, eine vorliegende Schwangerschaft, die Behandlung mit Immunsuppressiva oder Chemotherapeutika binnen der letzten 6 Monate, ein Myokardinfarkt oder der Verdacht auf einen Myokardinfarkt binnen der letzten 6 Wochen, eine Herzinsuffizienz des Stadiums 4 der Klassifikation der New York Heart Association, eine bekannte Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus und eine Lebenserwartung < 28 Tage bei einer schweren unheilbaren Erkrankung (z. B. Tumorerkrankung, Lungenerkrankung im Endstadium, Sauerstofftherapie im häuslichen Umfeld, Nierenerkrankung im Endstadium). Auch ein chronisch vegetativer Status sowie der Wunsch des Patienten, nicht behandelt oder reanimiert zu werden, führten zum Ausschluss. Zudem wurden keine Beteiligten an der Studie und deren Familienangehörige sowie

Patienten, bei denen die Bereitschaft zur Teilnahme (Patient oder gesetzlicher Vertreter) fehlte, eingeschlossen. Patienten, die bereits bei einem vorausgegangenen Aufenthalt wegen einer Sepsis behandelt und in die Studie eingeschlossen worden waren, wurden nicht erneut aufgenommen (Runzheimer et al. 2019).

Nach der Identifikation eines potentiell für die Studie in Frage kommenden Patienten wurde dieser oder sein gesetzlicher Betreuer über die Studie informiert; in dem Gespräch wurden auch etwaige Fragen geklärt. Dabei wurden das Krankheitsbild Sepsis, das Studiendesign mit der Zielsetzung, den Einfluss genetischer Varianten auf den Krankheitsverlauf zu untersuchen, und der Datenschutz erläutert. Die Patienten bzw. Betreuer wurden über die Notwendigkeit und Risiken der Blutentnahme über einen vorhandenen arteriellen oder venösen Zugang sowie über die Nutzung des gewonnenen Bluts für eine genetische Analyse informiert. Auch die anonymisierte Sammlung und Auswertung der Gesundheitsdaten der Patienten zum Aufenthalt auf der Intensivstation wurden thematisiert. Die Einwilligung erteilte entweder der gesetzliche Betreuer oder der Patient selbst. Teilweise wurde die Einwilligungserklärung erst nach Wiedererlangen der Einwilligungsfähigkeit vom Patienten selbst unterzeichnet. Den Patienten war es jederzeit möglich ohne Angabe von Gründen die Teilnahme an der Studie zu beenden und eine Vernichtung der erhobenen Daten und der Blutprobe einzufordern.

2.2.2 Blutentnahme

Nach Einschluss der Patienten wurde eine Blutprobe über einen vorhandenen arteriellen oder venösen Zugang gewonnen. Hierfür wurden zwei mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) versetzte Blutentnahmeröhrchen verwendet. Die Proben wurden mit Datum und der internen GenoSep-Nummer versehen und bis zum Zeitpunkt der DNA-Gewinnung und Genotypisierung bei -20° C gefroren gelagert.

2.2.3 Erhebung der klinischen Daten

2.2.3.1 Allgemeine Aspekte der Datenerhebung

Nach Einschluss eines Patienten in die Studie wurde mit der Datenerhebung begonnen. Die Daten wurden in anonymisierter Form gespeichert. Neben den Patientenstammdaten wurden anamnestische Informationen, Parameter des Krankheitsverlaufs und der Therapie und die 90-Tagesmortalität des Patienten erhoben. Die gesammelten Daten wurden in einem *Clinical Report Form* (CRF, siehe Anhang) dokumentiert.

Zur Erfassung der Daten wurden die Programme *IntelliSpace Critical Care and Anesthesia (ICCA)* (© Philips Healthcare GmbH, Hamburg) und *Ixserv.4 Web client (Ixserv)* (© ixmid Software Technologie GmbH, Köln) genutzt. Die Befundung der Röntgenaufnahmen erfolgte mit dem Programm *Centricity Enterprise Web V3.0* (© 1995-2006 GE Medical Systems, Illinois, USA). In der Anästhesiologie der Universitätsmedizin Göttingen wird

ICCA für die elektronischen Patientenakten genutzt. Hier finden sich relevante klinische Parameter, die Dokumentation des Krankheitsverlaufs durch die behandelnden Ärztinnen und Ärzte sowie Pflegenden und die verabreichte Medikation. Im *Ixserv* werden mikrobiologische und serologische Befunde, Befunde durchgeführter Spezialuntersuchungen und verabreichte Blutprodukte dokumentiert.

2.2.3.2 Daten vor Beginn der Sepsis

Für die Erfassung der Patientenanamnese wurde die elektronische Patientenakte im *ICCA* auf Vordiagnosen und Vormedikation überprüft. Ergänzend wurde im *Ixserv* recherchiert, ob Hinweise auf die Patientenvorgeschichte (Entlassbriefe, Befunde) vorhanden waren. Die Erhebung der Vorerkrankungen und der Vormedikation diente der Dokumentation der individuellen Krankheitsgeschichte. Zusätzlich wurde das Geschlecht, das Alter, die Größe und das Gewicht der Patienten erfasst. Bei Einschluss in die Studie wurde der Sepsis-Beginn, der Beginn der intensivmedizinischen Versorgung sowie der Anlass und Beginn der Krankenhausbehandlung erhoben. Auch der operative Status (nicht operiert / postoperativ nach Notfalloperation bzw. elektiver Operation) wurde erfasst. Weiter wurde der vermutete bzw. mikrobiologisch bestätigte Infektfokus (Lunge, Abdomen, Knochen, Weichteile, chirurgische Wunden, Urogenitaltrakt, primäre Bakteriämie, Sonstige) klassifiziert. Wurde der Infektfokus erst im Verlauf des Intensivaufenthaltes identifiziert, wurde diese Information später ergänzt.

2.2.3.3 Beobachtungszeitraum auf der Intensivstation

Nach Sepsis-Beginn wurden die Patienten für die Dauer des Intensivaufenthalts, maximal aber 28 Tage, täglich visitiert. Im Rahmen der täglichen Visiten wurden die Daten in die CRF übertragen, um den Krankheitsverlauf zu analysieren. Aus den erhobenen Daten wurde täglich der SOFA-Score und am ersten Tag der Sepsis der APACHE-II-Score bestimmt. Ein Tag reichte von 00:00 h bis 23:59 h. Zu den täglich erhobenen Daten gehörten die höchste und niedrigste Körpertemperatur, Infektparameter (z. B. C-reaktives Protein, Procalcitonin) und ein Blutbild mit Hämoglobin, Hämatokrit sowie Erythrozyten-, Thrombozyten- und Leukozytenzahl. Als Parameter des Herzkreislaufsystems wurden die höchste und niedrigste Herzfrequenz, der höchste und niedrigste systolische Blutdruck, der arterielle Mitteldruck, sowie ggf. verabreichte Katecholamine dokumentiert. Die Atmung wurde anhand der höchsten und niedrigsten Atemfrequenz, des niedrigsten arteriellen Sauerstoff-Partialdrucks mit zugehörigem Kohlendioxid-Partialdruck sowie der inspiratorischen Sauerstoff-Konzentration beurteilt. Durch mehrere arterielle Blutgasanalysen wurde der höchste und niedrigste arterielle pH-Wert bestimmt. Weiter wurden im Blut der höchste und niedrigste Kalium- und Natrium-Wert, der höchste Laktat-Wert sowie der höchste und niedrigste Basenüberschuss dokumentiert. Aus den Blutgasanalysen wurde der Mittelwert der Glukose-Konzentration im Blut bestimmt. Auch wurde eine etwaige Insulin-Therapie dokumentiert. Die Leberfunktion wurde über den Bilirubin-Spiegel, die Leberenzyme Aspartat-

Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT), den Quick-Wert und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) erfasst; dabei wurde auch eine etwaige antikoagulative Therapie dokumentiert. Die Nierenfunktion wurde über den Kreatinin-Wert und die Urinausscheidung über 24 h beurteilt. Täglich wurde der GCS erhoben; der höchste erhobene GCS wurde dokumentiert.

Darüber hinaus wurde ggf. eine maschinelle Beatmung, die Durchführung von Nierenersatzverfahren, Röntgenaufnahmen des Thorax, nachgewiesene Erreger und deren Nachweisort, Therapien mit Antibiotika, Gaben von Blutprodukten (z. B. Erythrozyten-Konzentrate, Frischplasma) dokumentiert.

2.2.3.4 Beendigung der Datenerhebung

Die detaillierte Dokumentation des Krankheitsverlaufs wurde entweder nach 28 Tagen oder bei Verlegung bzw. Entlassung des Patienten beendet. Bei einem Versterben des Patienten innerhalb von 28 Tagen nach Sepsis-Beginn wurde die Todesursache dokumentiert. Die Beobachtung eines Patienten endete 90 Tage nach Sepsis-Beginn. Zur Überprüfung, ob ein Patient zu diesem Zeitpunkt noch lebte, wurde er entweder selbst oder seine Angehörigen kontaktiert. Falls dies nicht möglich war, wurde eine Überlebensabfrage beim Einwohnermeldeamt durchgeführt. Die erhobenen klinischen Daten wurden in der GenoSep-Datenbank dokumentiert.

2.2.4 Datenbank

Die Daten neu inkludierter Studienteilnehmer wurden in die GenoSep-Datenbank eingepflegt und dort gespeichert. Als Anwendersoftware für die Datenbank wurde *Microsoft Access* (© Microsoft Corporation, Version 15.0, Washington, USA) gewählt. Mit der Datenerhebung war bereits im Jahr 2012 begonnen worden. Die Arbeitsgruppe um Prof. Mansur analysiert die Auswirkung genetischer Polymorphismen auf den Sepsis-Verlauf und die Sterblichkeit betroffener Patienten. Um die erforderliche Größe des Patientenkollektivs zu erreichen, wird die Datensammlung sukzessive von Promovierenden erweitert. Daher waren verschiedene Promovierende mit den Aufgaben der Patientenrekrutierung und den Laboranalysen (z. B. DNA-Extraktion) betraut. Die Datensammlung wurde durch neueingeschlossene Patienten kontinuierlich ergänzt. Aufgrund differenter Fragestellungen übernahmen die Promovierenden eigenständig die Genotypisierung des Patientenkollektivs. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit betraf die Genotypisierung den TREM-1-SNP rs2234237. Andere Promovierende untersuchten andere genetische Assoziationen. Ab Oktober 2017 wurde der Autor der vorliegenden Arbeit von einem weiteren Doktoranden (Caspar Mewes) eingearbeitet. Bis September 2018 wurden die oben beschriebenen täglichen Aufgaben von dem Verfasser der vorliegenden Arbeit übernommen; zusätzlich arbeitete er in dieser Zeit weitere Doktoranden ein.

2.3 Methoden

2.3.1 DNA-Extraktion

Die Gewinnung genomischer DNA aus den Blutproben für die Genotypisierung erfolgte anhand eines *Standard Operating Procedure* (SOP) der Klinischen Pharmakologie. Aus 200 µl Blut wurden 100 µl DNA-Lösung mit einer Konzentration von 10 – 100 ng/µl (durchschnittlich 40 ng/µl) gewonnen.

Aufgrund der potentiellen Infektiosität des Blutes erfolgten die Arbeitsschritte unter Einhaltung von Sicherheitsmaßnahmen (z. B. Tragen eines Laborkittels und von Handschuhen). Auch wurden spezielle, für die Verwendung von Blut freigegebene Pipetten verwendet. Der anfallende Abfall wurde als infektiöser Abfall entsorgt.

Die bei –20° C in Gefrierschränken gelagerten Blutproben wurden bei 37° C für 30 min bis zum vollständigen Auftauen inkubiert. Pro Protokollzyklus wurden 2 – 12 Patientenproben bearbeitet. Nach dem Auftauen wurden die Proben in den Blutentnahmeröhrchen durch Drehung vermischt und in einem durchnummerierten Monovettenständer platziert. Danach wurden die leeren Probenröhrchen mit Etiketten und der Studiennummer versehen, um eine Verwechslung auszuschließen. Nach der Beschriftung wurden 200 µl Blut aus den Monovetten in die Probenröhrchen pipettiert. Dabei wurden etwaige Bläschen mit der Pipette zerstört. Die Probenröhrchen wurden in gleicher Reihenfolge auf einem Probenrack platziert. Im Anschluss wurde nochmals die Richtigkeit der Reihenfolge überprüft. Der nicht verwendete Anteil der Blutprobe wurde wieder bei –20° C eingelagert.

Für die automatisierte DNA-Extraktion wurde der QIAcube Roboter benutzt. Dabei wurde ein standardisiertes Protokoll (*QIAamp DNA Blood mini Programm*) zur Gewinnung der genomischen DNA angewendet. Dieser vollautomatische Prozess besitzt eine geringere Fehleranfälligkeit als manuelle DNA-Gewinnungsmethoden. Bei jedem Startvorgang überprüft der QIAcube seine Funktionalität. Nach dem Selbsttest und nachdem überprüft wurde, dass der Abwurf des Gerätes geleert worden war, wurde das Gerät vorbereitet. Zunächst wurden die benötigten Pipettenspitzen in den Halter des QIAcube-Roboters überführt und die Halterung der Gefäße mit den benötigten Reagenzien (100 % Ethanol, Puffer AL, AW1, AW2 und AE) im QIAcube eingesetzt. Es war darauf zu achten, dass die Gefäße einen ausreichenden Füllstand aufwiesen. Danach wurde ein 1,5 ml Reaktionsgefäß mit der Protease in die Maschine eingeführt. Die benötigte Protease-Menge richtete sich nach der Anzahl der zu untersuchenden Proben. Anschließend wurde der Rotor-Adapter mit den mit der GenoSep-Patientennummer versehenen 1,5 ml DNA-Elutionsgefäßen beladen. Bei der Bestückung der Zentrifuge des QIAcube mit den Rotor-Adaptoren wurde auf die Position der Gefäße geachtet, um Probenverwechslungen zu vermeiden. Die beschrifteten und befüllten *Sample Tubes* wurden in dem *Shaker Rack* des QIAcube platziert. Nach der Vorbereitung des QIAcube wurde mit dem automatisierten Extraktionsprozess begonnen. Dafür überprüfte der QIAcube zunächst die sachgemäße Beladung und den ausreichenden

Füllstand der Reagenzien. Nach Ablauf des Protokolls wurden die 1,5 ml Elutionsgefäße mit der DNA-Lösung entnommen. Zur Vermeidung von Verunreinigungen wurden die Gefäße umgehend verschlossen. Der anfallende Abfall wurde sachgemäß entsorgt. Die DNA-Lösung wurde nach der fotometrischen Reinheitsbestimmung bei -20°C bis zur Genotyp-Analyse gelagert.

2.3.2 Bestimmung der DNA-Konzentration

Nach dem Extraktionsprozess wurde die Qualität der DNA-Proben fotometrisch überprüft. Durch diese Qualitätsüberprüfung wurden potentielle Störfaktoren (z. B. Verunreinigungen, Pipettierfehler) ausgeschlossen und die Verlässlichkeit der Ergebnisse garantiert. Für die anschließende Polymerase-Kettenreaktion (PCR = *Polymerase Chain Reaction*) war eine ausreichende DNA-Menge in ausreichender Qualität notwendig. Die DNA-Konzentration und die Verunreinigung durch Proteine wurden mittels Fotometer nach dem Prinzip des Lambert-Beer-Gesetzes bestimmt. Dafür wurden $4\ \mu\text{l}$ DNA-Lösung mit $96\ \mu\text{l}$ Ampuwa (DNA-freies Wasser hoher Reinheit) gemischt.

DNA und Proteine weisen wellenlinienabhängig unterschiedliche Extinktionseigenschaften auf. Für DNA liegt das Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von $260\ \text{nm}$, für Proteine bei $280\ \text{nm}$. Mittels des Quotienten der Absorption bei $260\ \text{nm}$ und $280\ \text{nm}$ lässt sich somit die Reinheit bestimmen. Der Wert sollte zwischen 1,7 und 2,1 liegen.

2.3.3 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Zur Bestimmung des TREM-1-Genotyps rs2234237 wurde die extrahierte DNA mittels PCR amplifiziert, um genügend DNA-Material zu generieren. Dazu wurde eine *Standard Operating Procedure* (SOP) der Klinischen Pharmakologie der Universitätsmedizin Göttingen verwendet. Durch die Nutzung einer *real-time* PCR war eine Quantifizierung der gebildeten DNA möglich (siehe Kapitel 2.3.4).

Bei der PCR wird die DNA in einem Thermocycler mittels DNA-Polymerase *in vitro* amplifiziert. Die in einem Zyklus amplifizierte DNA dient als Substrat für den anschließenden Zyklus. Die zu amplifizierende DNA-Sequenz wird als *Template* (engl. Vorlage) bezeichnet. Die verwendeten Primer (Oligonukleotid; dient der DNA-Polymerase als Startpunkt für die Amplifikation) sind komplementär zu Teilen der zu amplifizierenden DNA-Sequenz. Durch Anlagerung von Desoxyribonukleosid-Triphosphaten werden die neuen DNA-Stränge synthetisiert. Ein PCR-Zyklus besteht aus den drei Schritten Denaturierung, Primerhybridisierung und Elongation, die in der Regel 40 – 50-fach wiederholt werden. Als DNA-Polymerase wurde die hitzestabile Taq-Polymerase verwendet, weil diese bei der Denaturierung stabil bleibt und nicht nach Ablauf eines jeden Zyklus erneut hinzugefügt werden muss.

Für die Denaturierung, die die doppelsträngige DNA in DNA-Einzelstränge überführt, wird der Reaktionsansatz auf 95°C erhitzt, wodurch die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen

den Strängen aufgebrochen werden. Die Denaturierung erfolgte in jedem Zyklus. Zu Beginn der PCR dauert die Denaturierung 10 min, in den späteren Zyklen 15 Sekunden.

Bei der sich der Denaturierung anschließenden Hybridisierung lagern sich die Primer an die zu amplifizierende DNA-Sequenz an. Die Primer bestimmen den Startpunkt der Amplifikation an den beiden Einzelsträngen der DNA. Dieser Prozess lief nach dem verwendeten Versuchsprotokoll bei 60° C ab.

Die Elongation erfolgte laut Versuchsprotokoll ebenfalls bei 60° C. Die Taq-Polymerase elongiert am 3'-Ende des Primers einen neuen DNA-Strang komplementär zum *Template*. Die Synthese der DNA erfolgt in 5'→3'-Richtung. Hybridisierung und Elongation dauerten bei dem verwendeten Versuchsprotokoll zusammen 90 Sekunden.

Im Folgenden werden die einzelnen Arbeitsschritte beschrieben: Die extrahierten DNA-Lösungen wurden bei -20° C in 96-Well-Platten gelagert. Die Platten mit maximal 96 Patientenproben waren nach der GenoSep-Nummer sortiert. Die gefrorene DNA-Lösung wurde zunächst im Inkubator bei 37° C vollständig aufgetaut. Anschließend wurden die Well-Platten für wenige Sekunden bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, damit sich die gesamte Lösung in den Wells am Boden der Platte befand. Die Primer und Sonden wurden bei -20° C lichtgeschützt und der PCR-MasterMix im Kühlschrank (2 – 8° C) gelagert. Der für die Genotypisierung geeignete MasterMix enthielt DNA-Polymerase, Desoxyribonucleosid-Triphosphate und eine Pufferlösung. Die Reagenzien wurden kurz vor Versuchsbeginn aus der Kühlung genommen. Der MasterMix wurde vor der Zusammenführung mit Primern, Sonden und Wasser auf einem Reagenzglasschüttler gründlich durchmischt. Auch die Mischung aus Primer und Sonden, Ampuwa und MasterMix wurde erneut gemischt. Die Lösung wurde mittels autoklavierter Pipettenspitzen in eine 384-Well-PCR-Platte pipettiert. Danach wurde die DNA-Lösung der Probanden von zwei 96-Well-Platten auf die 384-Well-PCR-Platte übertragen. Der Reaktionsansatz pro Patientenprobe (10 µl) setzte sich aus 5 µl 2x TaqMan Genotyping MasterMix, 0,25 µl 40 x SNP spezifischen Primer und Sonden, 2,75 µl Ampuwa und 2 µl DNA-Lösung zusammen. Bei den Negativkontrollen wurde die DNA-Lösung durch Ampuwa ersetzt. Mittels der Negativkontrollen wurden etwaige Verunreinigungen der Reagenzien mit DNA detektiert. Bei der allelischen Diskriminierung hätte ein Fluoreszenzsignal bei den Negativkontrollen dazu geführt, alle Proben einer Platte erneut zu testen. Nach dem Befüllen wurde die 384-Well-Platte mit einer selbstklebenden Schutzfolie verschlossen und vor der PCR wenige Sekunden bei 2000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

Die in einem Thermocycler durchgeführte PCR bestand aus den Schritten Denaturierung, Primerhybridisierung und Amplifikation. Vor dem ersten Zyklus erfolgte eine Vordenaturierung bei 95° C für 10 min. Die 50 Zyklen bestanden aus einer Denaturierung bei 92° C für 15 Sekunden und einer Primerhybridisierung /Amplifizierung bei 60° C für 90 Sekunden. Die PCR wurde nach 30 Sekunden bei 60° C beendet.

Nach der PCR wurde die selbstklebende Schutzfolie durch eine Schutzfolie, die die Auswertung durch ein TaqMan 7900HT *fast real-time* PCR-System ermöglichte, ersetzt. Die allelische Diskriminierung (siehe Kapitel 2.3.4) wurde direkt im Anschluss durchgeführt.

2.3.4 Allelische Diskriminierung

Die allelische Diskriminierung ist ein etabliertes Verfahren zur Bestimmung von Genotypen. Die im Vorfeld durchgeführte *real-time* PCR ermöglichte eine Quantifizierung der DNA und somit eine Unterscheidung zwischen homozygoten und heterozygoten SNP-Merkmalsträgern. Für die allelische Diskriminierung enthielten die PCR-Ansätze neben den Primern auch fluoreszenzmarkierte Sonden, die von der Taq-Polymerase bei der Amplifikation der DNA eingebaut wurden. Aufgrund des PCR-Prinzips nahm die Fluoreszenz proportional zur DNA-Menge zu. Zur Identifizierung des SNP-Genotyps der Studienteilnehmer wurden zwei Allel-spezifische Sonden genutzt. In Abhängigkeit von dem Allel der DNA-Vorlage wurde bei der PCR am 5'-Ende entweder ein 6-Carboxyfluorescein (VIC) oder Carboxyrhodamin (FAM) eingebaut. Anhand der Intensität der Fluoreszenzsignale war es möglich zu bestimmen, ob ein Proband beim TREM-1-SNP rs2234237 einen TT-homozygoten, einen AA-homozygoten oder einen AT-heterozygoten Genotyp aufwies.

Neben dem als Reporter genutzten Fluoreszenzfarbstoff am 5'-Ende enthielten die Sonden am 3'-Ende einen nicht fluoreszierenden Quencher-Farbstoff. Wenn die Sonden nicht in die DNA eingebaut und daher nicht gespalten wurden, kam es aufgrund einer Energieübertragung auf den Quencher zu einer Abnahme der Fluoreszenz des Reporters. Wurden die Sonden durch die DNA-Polymerase in den neu synthetisierten Tochterstrang eingebaut, führte dies über die Spaltung der Sonde zu einer räumlichen Trennung zwischen Quencher und Reporter und damit zu einem Fluoreszenzsignal. Die verwendeten TaqMan Sonden besaßen am 3'-Ende einen *Minor Groove Binder* (MGB), der über eine Erhöhung der Schmelztemperatur die Verwendung von kürzeren Sonden erlaubte (Lee et al. 1993; Wichtige Informationen zur Real-Time PCR - DE).

Diese allelische Diskriminierung erfolgte in der Klinischen Pharmakologie der Universitätsmedizin Göttingen mit einem TaqMan 7900HT Fast *real-time* PCR System mittels *Plate-Read-Assay* (Endpunktassay) nach Abschluss der PCR-Zyklen. Für die Auswertung wurde das Computerprogramm *SDS 2.4* (Thermo Fischer Scientific Inc., Massachusetts, USA) verwendet. In der grafischen Darstellung der allelischen Diskriminierung (Abbildung 2) entspricht jeder Punkt dem Fluoreszenzsignal eines Patienten.

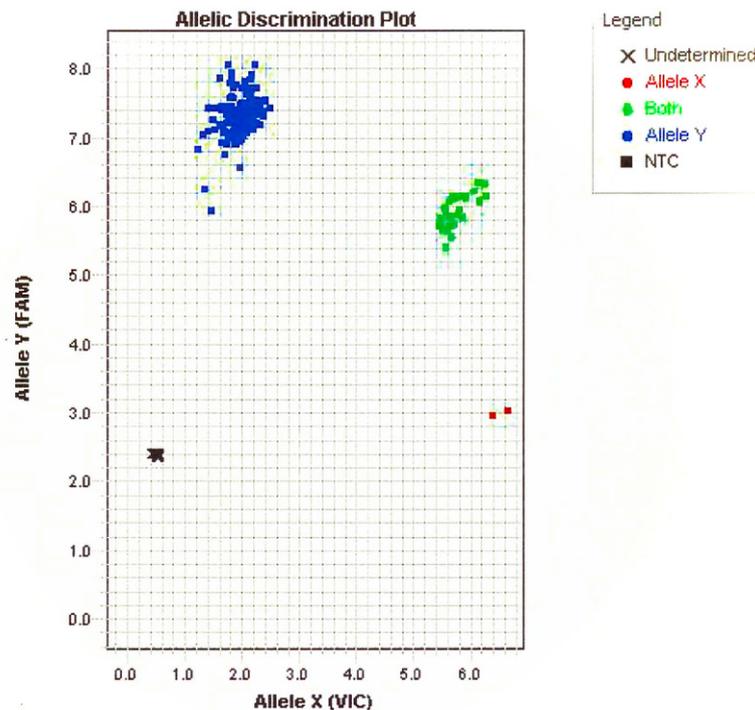


Abbildung 2: Allelische Diskriminierung beim *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) rs2234237

In der Grafik entspricht jeder Punkt einem Patienten. Auf der x-Achse ist das Fluoreszenzsignal für die 6-Carboxyfluorescein-(VIC)-Sonde aufgetragen, auf der y-Achse das der Carboxyrhodamin-(FAM)-Sonde. Rote Punkte entsprechen homozygoten Trägern des A-Allels, blaue Punkte homozygoten Trägern des T-Allels und grüne Punkte heterozygoten Merkmalsträgern. Die schwarzen Punkte stehen für die durchgeführten Negativkontrollen.

Nach dem Zufallsprinzip wurden 15 % der Proben zweimal mittels PCR und allelischer Diskriminierung analysiert, um etwaige Verunreinigungen oder Fehlmessungen zu detektieren. Dabei wurden keine inkonsistenten Ergebnisse festgestellt.

Der mittels allelischer Diskriminierung bestimmte TREM-1-SNP-Genotyp rs2234237 wurde in die GenoSep-Datenbank eingepflegt.

2.3.5 Statistik

Vor der statistischen Auswertung wurden die Daten der GenoSep-Datenbank auf Konsistenz, Plausibilität, Vollständigkeit und mögliche Fehler stichprobenartig überprüft. Dafür wurden Tabellen aus der Datenbank generiert und mittels *Microsoft Excel* (© Microsoft Corporation, Version 15.0, Washington, USA) bearbeitet.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm *Statistica* (© StatSof, Version 13, Oklahoma, USA). Für den Vergleich der verschiedenen Merkmalsträger im TREM-1 SNP rs2234237 wurden verschiedene statistische Verfahren verwendet. Bei allen Analysen wurde

ein p-Wert $< 0,05$ als statistisch signifikant gewertet, p-Werte $\geq 0,05$ galten als nicht signifikant.

Kontinuierliche Variablen werden bei Normalverteilung als Mittelwerte mit Standardabweichung ($MW \pm SD$) angegeben, bei nicht normalverteilten Werten als Median. Zur Analyse potentieller Unterschiede zwischen den Genotyp-Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test oder Student-t-Test verwendet.

Kategoriale Variablen wurden als absolute Werte oder Prozentanteile angegeben. Zur Analyse potentieller Unterschiede zwischen den Genotyp-Gruppen wurde der Pearson Chi-Quadrat-Test verwendet.

Das Überleben wurde mittels Kaplan-Meier-Überlebenskurven ausgewertet, hier erfolgte der Vergleich der Genotypen mittels Log-rank-Test.

Mittels multivariater Cox-Regression wurden Faktoren identifiziert, die das Überleben der Patienten beeinflussten. Für das Risiko wurde die Odds-Ratio und ein 95%-Konfidenzintervall angegeben.

Zur Überprüfung der Häufigkeiten der Genotypen des untersuchten Kollektivs wurde das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht mittels eines online zur Verfügung stehenden Rechners von Michael H. Court (Hardy-Weinberg calculator) ermittelt. p-Werte $\geq 0,05$ entsprachen dem erwarteten Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten

3.1.1 Patientengruppierung

Im Rahmen dieser Forschungsarbeit wurden 649 prospektiv eingeschlossene Patienten untersucht. Laut Genotypisierung wiesen 545 Patienten einen TT-homozygoten, sechs Patienten einen AA-homozygoten und 98 Patienten einen AT-heterozygoten Genotyp im TREM-1-SNP rs2234237 auf (Vergleiche Tabelle 6). Entsprechend der Hypothese bzw. Fragestellung wurden Patienten mit einem A-Allel in einer Gruppe zusammengefasst. Im Folgenden werden daher die Ergebnisse der TT-Homozygoten und der A-Allel-Träger verglichen.

Die Ergebnisse wurden 2019 unter dem Titel „*Lack of an Association between the Functional Polymorphism TREM-1 rs2234237 and the Clinical Course of Sepsis among Critically Ill Caucasian Patients—A Monocentric Prospective Genetic Association Study*“ in der Sonderausgabe „*Sepsis: Immunopathology, Patient Classification and Clinical Management*“ des *Journal of Clinical Medicine* veröffentlicht (Runzheimer et al. 2019).

3.1.2 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv bestand aus 649 kaukasischen Patienten, die intensivmedizinisch in der Universitätsmedizin Göttingen versorgt wurden und im Verlauf ihres Aufenthaltes eine Sepsis entwickelten. Aus der Verteilung der Genotypen (Vergleiche Tabelle 6) ergab sich eine MAF für das A-Allel von 0,096. Laut dem Referenzwert auf der Basis 132.326 europäischer Teilnehmer betrug die erwartete MAF 0,101. Somit entsprach die beobachtete MAF nahezu der erwarteten Häufigkeit. Mittels Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wurde überprüft, ob die beobachtete Verteilung der Genotypen der erwarteten Verteilung entsprach. Bei einem $p = 0,4890$ bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Verteilungen, so dass die Ergebnisse als konsistent zu bewerten sind.

Tabelle 6: Verteilung des *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	TT-Genotyp	AT-Genotyp	AA-Genotyp
	545	98	6
Allele zusammengefasst	545	104	
Anteil am Patientenkollektiv	83,98 %	15,1 %	0,92 %

Von den 649 eingeschlossenen Patienten waren 66 % männlich. Das durchschnittliche Alter lag bei 63 Jahren (Spanne 18 – 91 Jahre). Die Patienten wiesen einen durchschnittlichen *Body-Mass-Index* (BMI) von 28 kg/m² auf (Tabelle 7). Die Parameter unterschieden sich zwischen den Genotyp-Gruppen nicht signifikant.

Tabelle 7: Patientencharakteristika in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Alter [Jahren]	63 ± 15	63 ± 15	64 ± 14	0,5392
Männliches Geschlecht [%]	66	66	66	0,9254
<i>Body-Mass-Index</i> (BMI) [kg/m ²]	28 ± 6	28 ± 6	27 ± 6	0,9725

3.2 Gesundheitsstatus

3.2.1 Gesundheitszustand vor Beginn der Sepsis

Der Gesundheitszustand der Patienten wurde vor Beginn der Sepsis anhand relevanter Vorerkrankungen und der Medikation erfasst. Häufige Vorerkrankungen und deren Verteilung in den Genotyp-Gruppen können Tabelle 8 entnommen werden. Bei der Auswertung wurden nur Diagnosen berücksichtigt, die mit einer ausreichenden Prävalenz im Patientenkollektiv vorhanden waren, um aussagekräftige Vergleiche zu ermöglichen.

Bei den untersuchten Vorerkrankungen fiel auf, dass Patienten mit einem TT-homozygoten Genotyp signifikant häufiger einen Myokardinfarkt in der Vorgeschichte zeigten als Träger des A-Allels ($p = 0,0290$).

Tabelle 8: Vorerkrankungen in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen (Auswahl)

Vorerkrankungen [%]	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Arterieller Hypertonus	54	55	50	0,3804
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte	5	6	1	0,029
Chronische obstruktive Lungenerkrankung (COPD)	15	15	14	0,8703
Asthma bronchiale	3	3	2	0,6275
Chronische Niereninsuffizienz	10	10	11	0,9262
Nicht-insulinpflichtiger Diabetes mellitus	9	8	11	0,4805
Insulin-pflichtiger Diabetes mellitus	10	10	11	0,9712
Chronische Lebererkrankung	6	7	5	0,4898
Krebserkrankung in der Vorgeschichte	15	15	20	0,2387
Schlaganfall in der Vorgeschichte	6	6	4	0,341
Demenz	3	3	4	0,78
Rheumatoide Arthritis	1	1	0	0,2824

Auch hinsichtlich ihres operativen Status (keine Operationen / elektive Operationen / notfallmäßige Operationen) zeigten die Genotyp-Gruppen einen signifikanten Unterschied ($p = 0,0103$; Tabelle 9). Insgesamt waren 18 % der Patienten vorher nicht operiert worden; 29 % waren elektiv und 53 % der Patienten notfallmäßig operiert worden. Von den TT-

homozygoten Patienten waren 19 % nicht operiert, 54 % elektiv und 27 % notfallmäßig operiert worden; bei A-Allel-Trägern betragen die Anteile 11 %, 49 % elektiv bzw. 40%.

Tabelle 9: Operativer Status vor Beginn der Sepsis in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

Operative Vorgeschichte [%]	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Elektive Operation	29	27	40	0,0103
Notfallmäßige Operation	53	54	49	
Keine Operation	18	19	11	

3.2.2 Gesundheitszustand bei Diagnose der Sepsis

Zur Analyse der Krankheitsschwere der Patienten am Tag der Sepsis-Diagnose wurden der SOFA- und APACHE-II-Score, Laborparameter (Procalcitonin) und eine eventuelle Organdysfunktion erfasst (Tabelle 10). Zur Analyse der Organdysfunktion wurde die Notwendigkeit organunterstützender Therapien erhoben. Dazu zählten die maschinelle Beatmung, die Gabe von Katecholaminen (Dopamin, Dobutamin, Noradrenalin, Adrenalin) und Nierenersatzverfahren (Hämodialyse, Hämofiltration, Hämodiafiltration).

Der durchschnittliche SOFA-Wert zu Beginn der Sepsis lag im untersuchten Kollektiv bei 9,4 Punkten. Der höchste SOFA-Score betrug 22 von maximal möglichen 24 Punkten. Der APACHE II-Wert lag bei durchschnittlich 22 Punkten. Der niedrigste APACHE-II-Wert betrug 4 und der höchste 46 von maximal möglichen 71 Punkten. 86 % der Patienten benötigten eine maschinelle Beatmung, 67 % wurden mit Katecholaminen versorgt und 9 % erhielten ein Nierenersatzverfahren. Am ersten Tag der Sepsis wurde durchschnittlich ein Procalcitonin-Wert von 10 ng/dl gemessen. Das in den C-Zellen der Schilddrüse gebildete Procalcitonin ist eine Vorstufe des Hormons Calcitonin. Es wird im klinischen Alltag als Marker für bakterielle Infektionen verwendet. Die Genotyp-Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der Parameter bei Sepsis-Diagnose nicht signifikant.

Tabelle 10: Gesundheitszustand am Tag der Sepsis-Diagnose in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
SOFA-Wert (MW \pm SD)	9,4 \pm 3,9	9,4 \pm 3,8	9,0 \pm 4,1	0,1421
APACHE-II-Wert (MW \pm SD)	22 \pm 7	22 \pm 7	21 \pm 7	0,3042
Procalcitonin [ng/dl] (MW \pm SD)	10 \pm 29	10 \pm 30	10 \pm 26	0,8157
Maschinelle Beatmung [%]	86	86	87	0,82
Katecholamin-Gabe [%]	67	67	64	0,5878
Nierenersatzverfahren [%]	9	9	8	0,6681

Zum Zeitpunkt der Diagnose oder im Verlauf der Erkrankung wurde bei dem Großteil der Patienten der Infektfokus identifiziert. Am häufigsten war primär die Lunge betroffen, gefolgt vom Abdomen. Die identifizierten primären Infektfokuse waren in den Genotyp-Gruppen nicht signifikant verschieden (Siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Identifizierter Fokus der Sepsis in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

Infektionsort [%]	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Lunge	62	62	62	0,51
Abdomen	20	20	19	
Primäre Bakteriämie	6	6	8	
Knochen und Weichteile	4	4	3	
Urogenitaltrakt	2	2	3	
Chirurgische Wunde	2	1	4	
Sonstige	4	3	0	

3.2.3 Krankheitsverlauf

Die folgenden Ergebnisse geben den Verlauf der Sepsis anhand der während des intensivmedizinischen Aufenthaltes täglich erhobenen Daten wieder. Durchschnittlich erfüllten die Patienten nach drei Tagen auf der Intensivstation die Diagnosekriterien einer

Sepsis. Die mittlere Verweildauer nach der Diagnosestellung auf der Intensivstation betrug 17 Tage. Der Aufenthalt endete entweder mit dem Versterben des Patienten, bei seiner Genesung oder bei seiner Verlegung (andere Station / anderes Krankenhaus / Teilnahme an einer Rehabilitationsmaßnahme). Im Rahmen der Sepsis verweilten die Patienten durchschnittlich 40 Tage in der Universitätsmedizin Göttingen (Tabelle 12). Die einzelnen Zeiträume unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Genotyp-Gruppen.

Tabelle 12: Aufenthaltsdauer der *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

Aufenthaltsdauer [Tage] (MW \pm SD)	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
auf der Intensivstation	20 \pm 16	20 \pm 16	21 \pm 17	0,7486
auf der Intensivstation bis zur Sepsis-Diagnose	3 \pm 5	3 \pm 5	4 \pm 4	0,4293
auf der Intensivstation nach der Sepsis-Diagnose	17 \pm 15	17 \pm 15	17 \pm 16	0,6011
Universitätsmedizin Göttingen	40 \pm 29	39 \pm 28	44 \pm 33	0,2497

Wie in der Einleitung geschildert, spiegeln repetitiv erhobene SOFA-Werte den Krankheitsverlauf wider. Für die statistische Auswertung wurde ein Durchschnitt aus allen erhobenen SOFA-Werten gebildet. Tabelle 13 zeigt die durchschnittlichen organspezifischen SOFA-Scores sowie den Gesamt-SOFA-Mittelwert (Daten wurden täglich erhoben). Der Gesamt-SOFA-Mittelwert während des Krankheitsverlauf lag bei 7,0 Punkten. Zwischen den Genotyp-Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 13: SOFA-Scores und der SOFA-Subscores in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) TREM-1 rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	P-Wert
SOFA-Wert	7 ± 3,5	7 ± 3,5	6,8 ± 3,7	0,4717
SOFA-Wert Atmungssystem	2 ± 0,8	2 ± 0,8	2 ± 0,8	0,88
SOFA-Wert Herzkreislaufsystem	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	0,7582
SOFA-Wert Zentrales Nervensystem	2 ± 1,1	2 ± 1,1	1,9 ± 1,2	0,131
SOFA-Wert Niere	0,8 ± 1,2	0,8 ± 1,2	0,7 ± 1,1	0,8692
SOFA-Wert Gerinnung	0,4 ± 0,6	0,3 ± 0,6	0,4 ± 0,7	0,2439
SOFA-Wert Leber	0,4 ± 0,7	0,4 ± 0,7	0,3 ± 0,7	0,8126

Darüber hinaus wurden weitere Daten dokumentiert, die die Schwere der Erkrankung repräsentierten (Tabelle 14). Auch hier bestanden zwischen den Genotyp-Gruppen keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 14: Laborparameter und klinische Daten der Krankheitsschwere (MW \pm SD) in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Entzündungsparameter				
Leukozyten [1000/ μ l]	13 \pm 5	13 \pm 5	13 \pm 5	0,4353
C-reaktives Protein (CRP) [mg/l]	151 \pm 87	148 \pm 86	164 \pm 89	0,1946
Procalcitonin [ng/dl]	4 \pm 9	4 \pm 8	5 \pm 13	0,9562
Nierenwerte				
Urinausscheidung [ml/Tag]	2980 \pm 1333	3002 \pm 1343	2864 \pm 1280	0,2934
Urinausscheidung [ml/kg/h]	2 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 1	0,747
Kreatinin im Serum [mg/dl]	1,2 \pm 1	1,2 \pm 1	1,2 \pm 0,8	0,7346
Leberwerte				
Aspartat-Aminotransferase (AST, GOT) [IU/l]	168 \pm 595	177 \pm 642	114 \pm 229	0,3071
Alanin-Aminotransferase (ALT, GPT) [IU/l]	93 \pm 188	97 \pm 195	74 \pm 142	0,063
Bilirubin [mg/dl]	1,2 \pm 2	1,2 \pm 2	1,1 \pm 1,7	0,9725
Zentrales Nervensystem				
<i>Glasgow Coma Scale</i> (GCS)	10 \pm 3,2	9,9 \pm 3,2	10,4 \pm 3,3	0,1553
Gerinnung				
Thrombozyten [1000/ μ l]	296 \pm 152	300 \pm 155	274 \pm 131	0,181

Weiter wurden die von den Patienten während ihres Aufenthaltes entwickelten relevanten Organdysfunktionen erfasst (Tabelle 15). 93 % der Patienten benötigten eine maschinelle Beatmung, 79 % mussten mit Katecholaminen versorgt werden und 21 % erhielten eine Therapie mit einem Nierenersatzverfahren. Während des Intensivaufenthaltes erfüllten 51 % der Patienten die Kriterien für das Vorliegen eines septischen Schocks. Durchschnittlich wurden die Kriterien für einen septischen Schock an zwei Tagen während des Aufenthaltes erfüllt. Zwischen den untersuchten Genotyp-Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 15: Parameter der Organdysfunktionen in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Anteil der Patienten mit septischem Schock [%]	51	50	57	0,18
Tage im septischen Schock (MW \pm SD)	2 \pm 3	2 \pm 3	2 \pm 3	0,1453
Anteil der Patienten mit mechanischer Beatmung während des Aufenthaltes [%]	93	94	92	0,6332
Anteil der Patienten mit Katecholamin-Gabe während des Aufenthaltes [%]	79	79	78	0,7186
Anteil der Patienten mit Nierenersatzverfahren während des Aufenthaltes [%]	21	21	18	0,5133
Tage ohne maschinelle Beatmung (MW \pm SD)	5 \pm 5	5 \pm 5	4 \pm 5	0,8157
Tage ohne Katecholamin-Gabe (MW \pm SD)	10 \pm 7	10 \pm 7	10 \pm 7	0,5074
Tage ohne Nierenersatzverfahren (MW \pm SD)	14 \pm 8	14 \pm 8	14 \pm 8	0,7018
Anteil der Tage ohne maschinelle Beatmung [%] (MW \pm SD)	66 \pm 32	67 \pm 31	65 \pm 34	0,915
Anteil der Tage ohne Katecholamin-Gabe [%] (MW \pm SD)	34 \pm 30	33 \pm 30	34 \pm 30	0,7081
Anteil der Tage ohne Nierenersatzverfahren [%] (MW \pm SD)	9 \pm 22	10 \pm 23	9 \pm 22	0,6751

Während der intensivmedizinischen Sepsis-Therapie wurden zudem die mikrobiologischen und serologischen Befunde erfasst. Die Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen. Insgesamt wurden bei den 649 Patienten 3243 Erreger nachgewiesen. 83 % der Erregernachweise (n=2683) entfielen auf TT-Homozygote und 17 % auf A-Allel-Träger (n=560), was dem Verhältnis der Merkmalsträger (16 % A-Allel-Träger) im untersuchten Kollektiv entsprach. Die Erreger wurden in gram-positive, gram-negative Bakterien, Pilze, Viren und Parasiten gruppiert. Zwischen den Genotyp-Gruppen bestand kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung der Erreger-Gruppen (Tabelle 16). Für eine bessere Übersicht wurde auf eine tabellarische Darstellung der einzelnen Erreger verzichtet. Tabelle 17 gibt die Häufigkeit des Vorkommens der Erreger-Gruppen in den

Genotyp-Gruppen wieder. Im Beobachtungszeitraum wurden bei 78 % der Patienten gram-positive Bakterien, bei 67 % gram-negative Bakterien, bei 44 % Pilze und bei 12 % Viren nachgewiesen. Auch hier bestand zwischen den Genotyp-Gruppen kein signifikanter Unterschied.

Tabelle 16: Anteile der nachgewiesenen Erreger an allen Keimnachweisen in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=3243)	TT (n=2683)	AA/AT (n=560)	P-Wert
Gram-negative Bakterien [%]	31	31	31	0,1675
Gram-positive Bakterien [%]	45	45	44	
Pilze [%]	19	19	18	
Viren [%]	5	4	6	
Parasiten [%]	0	0	0	

Tabelle 17: Prozentuale Verteilung der Krankheitserreger in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Gram-negative Bakterien [%]	67	68	66	0,8146
Gram-positive Bakterien [%]	78	78	78	0,9163
Pilze [%]	44	44	47	0,5395
Viren [%]	12	17	11	0,0703

3.3 Mortalitätsanalyse

3.3.1 90-Tagesmortalität und 28-Tagesmortalität

Die Überlebensrate der Patienten wurde 28 Tage und 90 Tage nach dem Beginn der Sepsis erfasst (Tabelle 18). Als primärer Endpunkt wurde die 90-Tagesmortalität definiert. Bei den Trägern des A-Allels lag die Mortalität nach 90 Tagen bei 28 % und bei TT-homozygoten Patienten bei 31 %. Die Mortalität unterschied sich nicht signifikant zwischen den Genotyp-Gruppen. Nach 28 Tagen zeigten A-Allel-Träger mit 16 % eine geringere Mortalität als TT-homozygote Patienten mit 21%. Auch dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant.

Tabelle 18: Überleben nach 90 und 28 Tagen in den *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) TREM-1 rs2234237 Genotyp-Gruppen

	Alle (n=649)	TT (n=545)	AA/AT (n=104)	p-Wert
Überlebensrate nach 90 Tage [%]	70	69	72	0,5203
Überlebensrate nach 28 Tage [%]	80	79	84	0,3257

Der kumulierte Überlebensanteil nach 90 (Abbildung 3) und 28 Tagen (Abbildung 4) wurde auch graphisch mittels Kaplan-Meier-Kurven erfasst. Dabei wurde die Überlebensrate auf der y-Achse gegen die Zeit nach Diagnose einer Sepsis auf der x-Achse aufgetragen.

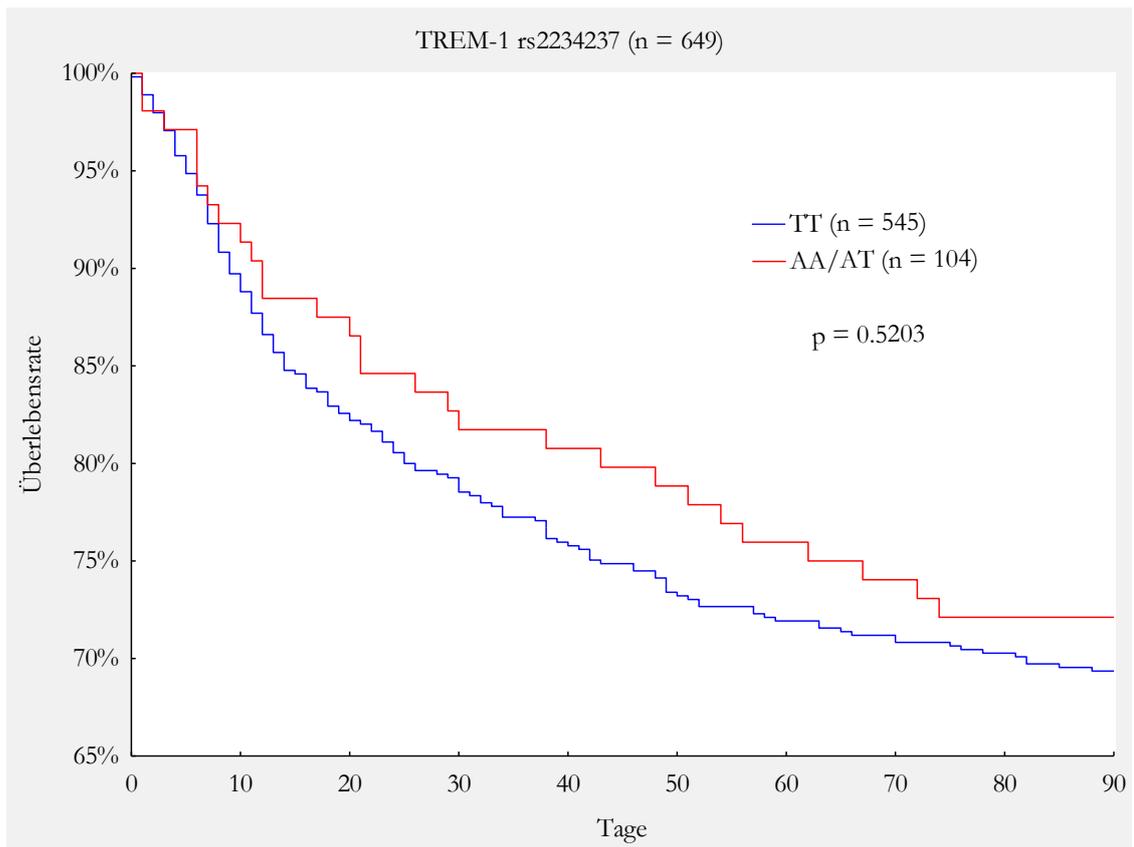


Abbildung 3: 90-Tagesüberlebensrate nach *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp

Blaue Kurve: TT-homozygote Merkmalsträger; rote Kurve: A-Allel-Träger. Auf der x-Achse sind die Tage nach Beginn der Sepsis aufgetragen und auf der y-Achse der prozentuale Anteil der Überlebenden (modifiziert nach Runzheimer et al. 2019). Creative commons license CC BY 4.0.

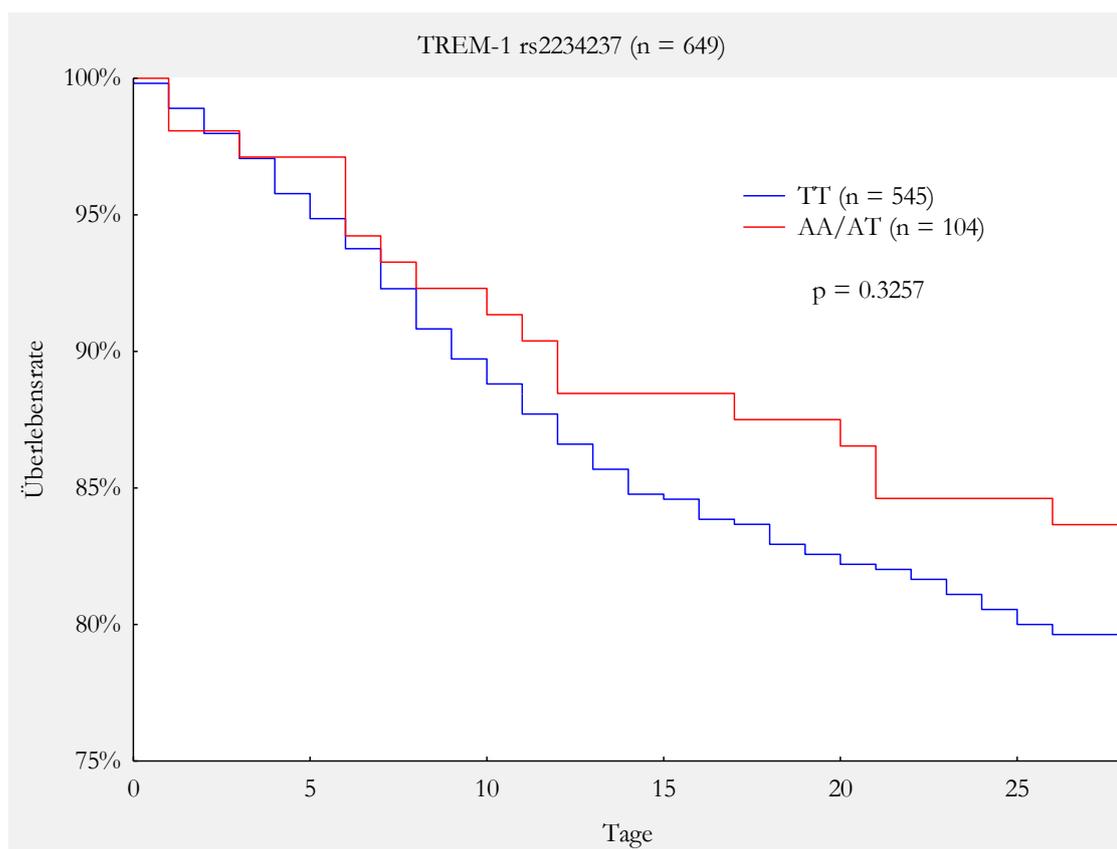


Abbildung 4: 28-Tagesüberlebensrate nach *Triggering receptor expressed on myeloid cells 1* (TREM-1) rs2234237 Genotyp

Blaue Kurve: TT-homozygote Merkmalsträger; rote Kurve: A-Allel-Träger. Auf der x-Achse sind die Tage nach Beginn der Sepsis aufgetragen und auf der y-Achse der prozentuale Anteil der Überlebenden (modifiziert nach Runzheimer et al. 2019). Creative commons license CC BY 4.0.

3.3.2 Multivariate Cox-Regression

Mit der Cox-Regression lässt sich der Einfluss unabhängiger Variablen auf das Eintreten von Ereignissen (hier das Versterben eines Patienten) überprüfen. Als Variablen wurden Charakteristika des Patientenkollektives (z. B. Alter, BMI, Geschlecht), die SOFA- und APACHE-II-Werte bei Sepsis-Beginn, ein Herzinfarkt in der Vorgeschichte und der TREM-1 rs2234237 TT-Genotyp einbezogen (Vergleiche Tabelle 19 und Tabelle 20). Es wurden Variablen, die die Krankheitsschwere abbildeten und zusätzlich das Alter, der BMI sowie das Geschlecht ausgewählt. Darüber hinaus wurde ein Herzinfarkt als Vorerkrankung aufgenommen, da sich die Gruppen diesbezüglich bei Krankheitsbeginn signifikant unterschieden. Lediglich die SOFA- und APACHE II-Werte sowie das Patientenalter hatten einen signifikanten Effekt auf das Überleben nach 90 Tagen (p-Werte: 0,0034; 0,0226; 0,0000).

Tabelle 19: Cox-Regression für die 90-Tagesmortalität

Variable	Hazard-Ratio	95 % Konfidenzintervall	p-Wert
Alter	1,0270	1,0150 – 1,0391	0,0000
<i>Body-Mass-Index</i> (BMI)	0,9795	0,9544 – 1,0053	0,1181
SOFA-Wert zu Beginn der Sepsis	1,0704	1,0228 – 1,1203	0,0034
APACHE II-Wert zu Beginn der Sepsis	1,0335	1,0046 – 1,0633	0,0226
Männliches Geschlecht	1,0481	0,7771 – 1,4137	0,7582
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte	1,2061	0,6956 – 2,0913	0,5046
<i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 TT Genotyp	1,1093	0,7448 – 1,6522	0,6098

Das Überleben nach 28 Tagen (Tabelle 20) wurde signifikant durch das Alter und den SOFA-Score zu Beginn der Sepsis beeinflusst (p-Werte: 0,0009; 0,0285).

Tabelle 20: Cox-Regression für die 28-Tagesmortalität

Variable	Hazard Ratio	95 % Konfidenzintervall	p-Wert
Alter	1,0244	1,0099 – 1,0391	0,0009
<i>Body-mass-index</i> (BMI)	0,9755	0,9444 – 1,0077	0,1351
SOFA-Wert zu Beginn der Sepsis	1,0881	1,0289 – 1,1507	0,0285
APACHE II-Wert zu Beginn der Sepsis	1,0322	0,9968 – 1,0688	0,0748
Männliches Geschlecht	1,2507	0,8546 – 1,8305	0,2496
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte	1,0310	0,5198 – 2,0451	0,9304
<i>Triggering receptor expressed on myeloid cells 1</i> (TREM-1) rs2234237 TT-Genotyp	1,2668	0,7580 – 2,1172	0,3668

4 Diskussion

Der Einfluss genetischer Variationen auf die Entstehung, Schwere und Mortalität von Krankheiten ist seit über dreißig Jahren bekannt. So wiesen Menschen, deren Eltern an einer Infektionserkrankung vor Erreichen des fünfzigsten Lebensjahres verstarben, eine fünfmal höhere Sterblichkeitsrate bei einer Infektionskrankheit auf (Sørensen et al. 1988). Durch die Möglichkeit einer vollständigen Sequenzierung des menschlichen Genoms (Schmutz et al. 2004) eröffneten sich weitreichende Möglichkeiten für die genetische Forschung. Epidemiologische Studien belegen die Rolle genetischer Variationen bei der Entwicklung, dem Verlauf und der Mortalität der Sepsis (Holmes et al. 2003). Die Identifikation von Genen, die die Krankheitsentstehung und den Verlauf der Sepsis beeinflussen, bietet mögliche Ansatzpunkte für die Entwicklung zielgerichteter Therapien (Holmes et al. 2003).

Bisherige Studien zum Einfluss des funktionellen TREM-1-SNP rs2234237 auf entzündliche Erkrankungen bzw. Sepsis lieferten widersprüchliche und uneinheitliche Ergebnisse. Bislang fehlen Studien zum Einfluss des TREM-1-SNP rs2234237 auf die Mortalität und Schwere einer Sepsis bei einem kaukasischen Kollektiv.

In einer Studie über Malaria wiesen T-Allel-Träger im TREM-1-SNP rs2234237 höhere Plasmaspiegel an sTREM-1 und einen schwereren Verlauf der Malaria auf (Aduko et al. 2016). Die Relevanz dieser Studie für die vorliegende Arbeit ergibt sich aus dem Befund, dass es bei der Malaria ähnlich wie bei einer Sepsis zu einer dysregulierten Immunreaktion kommt (Akanmori et al. 2000). Laut einer weiteren Studie besitzt das A-Allel einen protektiven Effekt für den Verlauf einer Malaria-Erkrankung (Mario-Vásquez et al. 2021).

Rivera-Chávez et al. zeigten in einem US-amerikanischen Studienkollektiv aus beatmungspflichtigen Verbrennungsoffern, dass T-Allelträger im TREM-1-SNP rs2234237 bei beatmeten Patienten häufiger eine beatmungsassoziierte Pneumonie entwickelten. Bei den untersuchten 540 Patienten trat eine beatmungsassoziierte Pneumonie bei 209 Patienten auf. T-Allel-Träger wiesen ein dreifach höheres Risiko für diese Komplikation auf; besonders gefährdet waren TT-homozygote Patienten. 20 % der 540 Verbrennungsoffer erfüllten die Diagnosekriterien einer Sepsis, wobei der TREM-1-Genotyp die Auftrittswahrscheinlichkeit einer Sepsis nicht beeinflusste (Rivera-Chávez et al. 2013).

Die Lunge ist bei der Sepsis ein häufiger Infektfokus (Vergleiche Tabelle 11). Auch im vorliegenden Kollektiv zeigten 62 % der septischen Patienten einen Infektfokus in der Lunge; die Häufigkeit war für TT-homozygote Patienten und A-Allel-Träger vergleichbar. Anders als in der vorliegenden Studie unterschieden Rivera-Chávez et al. AA-homozygote Patienten und T-Allel-Träger. Weiter unterschied sich die Genotyp-Verteilung erheblich von dem hier untersuchten Kollektiv, was die Vergleichbarkeit der Studien weiter einschränkt. Der Befund von Rivera-Chávez et al., dass das T-Allel vermutlich einen Risikofaktor für einen schweren Krankheitsverlauf und eine geringere Resilienz der Patienten für Krankheiten darstellt, trug aber zur Formulierung der Hypothese der vorliegenden Studie

bei, dass septische TT-homozygote Merkmalsträger im TREM-1-SNP rs2234237 einen schwerwiegenderen Krankheitsverlauf und eine höhere Mortalität aufweisen.

Eine mögliche Korrelation des TREM-1-Genotyp rs2234237 mit der Schwere und dem Verlauf eines septischen Schocks wurde auch an einem Han-chinesischen Kollektiv untersucht. Übereinstimmend mit den hier präsentierten Ergebnissen bestand keine Assoziation zwischen den beiden Parametern. Die Autoren betonten jedoch, dass die Ergebnisse aufgrund unterschiedlicher MAF nur bedingt auf andere Kollektive übertragbar sind (Peng et al. 2015). Eine weitere Studie an einem chinesischen Kollektiv fand ebenfalls keine Assoziation zwischen dem TREM-1-Genotyp rs2234237 und der Entwicklung einer schweren Sepsis bzw. dem Überleben der Patienten (Chen et al. 2008). Die Aussagekraft der Ergebnisse wurde durch die geringe statistische Power eingeschränkt, so dass eine Assoziation nicht sicher ausgeschlossen werden konnte.

Anders als die oben aufgeführten Untersuchungen fanden Su et al. Hinweise für eine Assoziation zwischen dem TREM-1-Genotyp rs2234237 und dem Verlauf einer Sepsis-Erkrankung in einem Han-chinesischen Patientenkollektiv. Der Genotyp beeinflusste die Prognose und den Krankheitsverlauf. Patienten mit einem AA-Genotyp zeigten eine niedrigere Mortalität als T-Allel-Träger. Laut den Autoren hatte das A-Allel einen protektiven Einfluss auf den Verlauf einer Sepsis, wohingegen das T-Allel nach der Regressionsanalyse einen Risikofaktor darstellte. Patienten mit einem TT-homozygoten Genotyp zeigten eine höhere 28-Tagesmortalität als A-Allel-Träger (Su et al. 2012).

Ein fehlender Effekt des Genotyps kann somit nicht sicher belegt werden, so dass weitere Analysen notwendig sind. Die vorliegenden Ergebnisse tragen dazu bei, die potentielle Rolle des TREM-1-Genotyps rs2234237 für den Verlauf einer Sepsis verlässlicher zu bewerten. Aufgrund der Vorbefunde wurde postuliert, dass der TT-Genotyp mit einem schweren Krankheitsverlauf und einer höheren Mortalität assoziiert ist. Diese Hypothese basierte auch auf Befunden im Mausmodell, in dem ein Eingriff in den TREM-1-Signalweg das Überleben der Mäuse beeinflusste. Laut Bouchon et al. verstärkt der TREM-1-Signalweg bei bakteriellen Infektionen die Entzündungsreaktion. Eine Blockade von TREM-1 schützt in Mäusen vor einem LPS-induzierten Schock und vor einer durch *Escherichia coli* ausgelösten bakteriellen Sepsis. Zudem fanden die Autoren geringere Plasmaspiegel von TNF α und IL-1 β sowie weniger neutrophile Granulozyten, Monozyten und Makrophagen (Bouchon et al. 2001). Passend dazu wurde in einem weiteren Mausmodell gezeigt, dass eine Aktivierung von TREM-1 zu erhöhten pro-inflammatorischen Zytokin-Spiegeln und zu einer erhöhten Mortalität nach LPS-Exposition führte. Diese Befunde unterstreichen die Rolle von TREM-1 für die Überaktivierung des Immunsystems bei einer Sepsis und einem septischen Schock (Gibot et al. 2004a). Weber et al. fanden in einem Mausmodell, dass eine Aktivierung von TREM-1 zu einer dysregulierten Immunantwort führt. Ein künstlich hervorgerufener TREM-1-Mangel durch eine Deletion des Exon 2 beeinflusste die Bekämpfung von Erregern durch das Immunsystem nicht negativ. In Exon 2 befindet sich auch der in der vorliegenden

Arbeit untersuchte SNP rs2234237. Die Mäuse mit TREM-1-Mangel zeigten signifikant seltener durch das Immunsystem ausgelöste Pathologien, ohne Einbußen bei der Bekämpfung von Krankheitserregern. Dazu wurden Mäuse mit und ohne TREM-1-Mangel mit *Leishmania major* über eine subkutane Läsion am Fußballen infiziert. Die Größe der Läsion nahm bei Mäusen mit TREM-1-Mangel weniger zu als bei Mäusen ohne TREM-1-Mangel. 21 Tage nach der Infektion zeigten die Mäuse mit TREM-1-Mangel eine dreifach geringere Anzahl an neutrophilen Granulozyten, wobei nach 35 Tagen die Erregerlast dennoch vergleichbar war (Weber et al. 2014).

Diese Ergebnisse liefern Hinweise darauf, dass TREM-1 eine Rolle bei der Pathophysiologie der Sepsis spielt. In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, inwieweit der funktionelle SNP rs2234237 im TREM-1-Gen sich auf den klinischen Verlauf und die Mortalität einer Sepsis auswirkt. Zur Analyse der Hypothese, dass der TT-homozygote Genotyp im TREM-1-SNP rs2234237 mit einem schweren Krankheitsverlauf und einer höheren Mortalität assoziiert ist, wurde das GenoSep-Patientenkollektiv genotypisiert. In diesem Kollektiv wiesen 84 % einen homozygoten TT-Genotyp im TREM-1-SNP rs2234237 auf, lediglich 16 % waren A-Allel-Träger. Die beobachtete MAF von 0,096 entsprach annähernd der für ein europäisches Kollektiv zu erwartenden MAF von 0,101. Die Genotyp-Verteilung stimmte mit der nach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht zu erwartenden Verteilung überein.

Die Patienten waren bei Einschluss durchschnittlich 63 ± 15 Jahre alt und hatten einen BMI von 28 ± 6 kg/m². 66 % der Patienten waren männlich. Zwischen den Genotyp-Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich dieser Charakteristika.

In der SOAP-Studie mit über 3.000 Patienten von 198 Intensivstationen in 24 europäischen Ländern wurde die Inzidenz und der Krankheitsverlauf der Sepsis analysiert (Vincent et al. 2006). Bei Einschluss war knapp ein Viertel der Patienten (24,7 %) septisch; 37,4 % der Patienten erkrankten im Studienverlauf an einer Sepsis. Dieses große europäische Patientenkollektiv ist für einen Vergleich mit dem hier vorliegenden GenoSep-Patientenkollektiv gut geeignet. Allerdings sind Unterschiede im Studiendesign zu beachten. Bei dem europäischen Kollektiv erfolgte die Patientenrekrutierung nur über 2 Wochen, während die Patienten des GenoSep-Kollektivs über mehrere Jahre sukzessiv in die Studie aufgenommen wurden. Im europäischen Kollektiv waren die septischen Patienten durchschnittlich 60 Jahre alt und zu 68 % männlich, was in etwa den Daten im vorliegenden Kollektiv (63 Jahre, 66 % männlich) entspricht. In beiden Kollektiven dominierten die Lunge (62 % GenoSep bzw. 68 % SOAP) und das Abdomen (20 % GenoSep bzw. 22 % SOAP) als primäre Infektfokuse. Im europäischen Kollektiv lag die Mortalität während des intensivmedizinischen Aufenthaltes bei den septischen Patienten bei 27 %. Die GenoSep-Patienten wiesen nach 28 Tagen eine Mortalität von 20 % auf. Allerdings lässt die 28-Tagesmortalität keinen Rückschluss auf die Mortalität während der intensivmedizinischen Behandlung zu. Trotz der weitgehend vergleichbaren Ergebnisse scheint das GenoSep-

Patientenkollektiv schwerer betroffen zu sein, was beispielsweise an der längeren durchschnittlichen Aufenthaltsdauer deutlich wird (20 Tage vs. 7 Tage). Eine mögliche Erklärung ist, dass Patienten der SOAP-Studie, die erst im Verlauf ihres intensivmedizinischen Aufenthaltes septisch wurden, eine geringere Überlebensrate zeigten als das Gesamtkollektiv. Auch in der vorliegenden Arbeit entwickelten die Patienten erst im Rahmen des intensivmedizinischen Aufenthaltes eine Sepsis. Epidemiologische Daten deutscher Universitätskliniken beziffern die durchschnittliche Liegezeit von Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock mit 19 Tagen (Engel et al. 2007), was der Länge des Intensiv Aufenthaltes in der vorliegenden Studie entspricht. Allgemein scheint das GenoSep-Patientenkollektiv die europäische Bevölkerung adäquat zu repräsentieren und erlaubt daher Rückschlüsse auf die Gesamtbevölkerung. Für eine Eignung des GenoSep-Patientenkollektivs sprechen auch die Gemeinsamkeiten mit dem SOAP-Kollektiv. Die Einschluss- und Ausschlusskriterien trugen dazu bei, ein homogenes Patientenkollektiv zu generieren.

Wie erwähnt, zeigten die Charakteristika (Alter, BMI, Geschlecht) der beiden Genotyp-Gruppen keine relevanten Unterschiede (Tabelle 7), was eine homogene Verteilung der Charakteristika auf die Genotypen im Patientenkollektiv beweist. Zwar wiesen A-Allel-Träger am Diagnosetag der Sepsis einen durchschnittlich niedrigeren SOFA- (9,0 vs. 9,4) und APACHE II-Wert (20 vs. 21) auf, allerdings erreichten diese Unterschiede nicht das Signifikanzniveau. Auch die Parameter für den potentiellen Einsatz einer Organunterstützung unterschieden sich nicht signifikant. Damit schien der Genotyp die Ausprägung der Symptome zum Krankheitsbeginn nicht zu beeinflussen.

Aufgrund des Fehlens signifikanter Unterschiede zum Zeitpunkt der Diagnosestellung zwischen den Gruppen, war von einer ähnlichen Prognose auszugehen. Dafür spricht auch das Fehlen signifikanter Unterschiede beim Infektfokus, die den Verlauf oder die Schwere der Erkrankung hätten beeinflussen können. Aufgrund der fehlenden Unterschiede zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie ließen sich die Genotyp-Gruppen im weiteren Verlauf gut vergleichen.

Wenn bei einem Infekt oder Infektverdacht eine Sepsis als Verdachtsdiagnose im Raum steht, erfolgt die Diagnose über eine Verschlechterung des SOFA-Scores um ≥ 2 Punkte. Eine Zunahme des Ausgangswertes um ≥ 2 Punkte spiegelt eine relevante Organdysfunktion wider. Eine Erhöhung des SOFA-Wertes korreliert mit einer erhöhten Krankenhaussterblichkeit (Singer et al. 2016). Diese Beobachtungen wurden durch die vorliegende Arbeit bestätigt. Die am ersten Tag einer Sepsis erhobenen SOFA- und APACHE-II-Werte beeinflussten die 90-Tagesmortalität signifikant. Weiter korrelierte der SOFA-Wert zusätzlich mit der 28-Tagesmortalität; der APACHE-II-Score verfehlte bei diesem Parameter nur knapp die statistische Signifikanz ($p = 0,0748$). Diese Ergebnisse unterstreichen die klinische Aussagekraft des SOFA-Wertes zur Identifizierung septischer Patienten.

Bezüglich ihres operativen Status unterschieden sich die Genotyp-Gruppen signifikant. So erhielten A-Allel-Träger zu 40 % elektive Operationen, zu 49 % Notfalloperationen und zu 11 % eine konservative Therapie, wohingegen TT-Homozygote zu 27 % elektiv und zu 54 % notfallmäßig operiert wurden und zu 19 % konservativ therapiert wurden. Ob ein Zusammenhang zwischen dem TREM-1-Genotyp und der Notwendigkeit operativer Therapien besteht, kann aus diesem Ergebnis nicht abgeleitet werden. Eine Aussage wird dadurch erschwert, dass die Indikationen für die Notwendigkeit einer Operation und die operativen Komplikationen nicht erfasst wurden.

Neben der Sterblichkeit, wurde auch die Krankheitsschwere in den Genotyp-Gruppen untersucht. Bezüglich der Notwendigkeit einer künstlichen Beatmung (A-Allel-Träger zu 92 % vs. TT-Homozygote zu 94 %), dem Einsatz einer Katecholamin-Therapie (A-Allel-Träger zu 78 % vs. TT-Homozygote zu 79 %) und einem Nierenersatzverfahren (A-Allel-Träger zu 18 % vs. TT-Homozygote zu 21 %) zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

Auch die organspezifischen SOFA-Subscore-Werte unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Genotyp-Gruppen. Die Befunde deuten an, dass der TREM-1-Genotyp die Organdysfunktion und Schwere einer Sepsis-Erkrankung nicht signifikant beeinflusst.

Auch bei den Laborparametern traten (nicht signifikante) Unterschiede zwischen den Genotyp-Gruppen auf. A-Allel-Träger zeigten niedrigere Leberenzym-Werte als TT-homozygote Merkmalsträger (AST 114 vs. 177 IU/l; ALT 74 vs. 97 IU/l). Eine Erhöhung der Leberwerte deutet auf eine Leberfunktionsstörung hin. Laut Nguyen-Lefebvre et al. verstärkt TREM-1 die Entzündungsreaktion und Fibrosierung bei Lebererkrankungen. In ihrer Studie war die Anzahl der TREM-1-exprimierenden Makrophagen und Monozyten in fibrotischen Leberarealen im Vergleich zu Proben von Lebergesunden erhöht. Bei TREM-1-defizienten Mäusen war eine Reduktion der Entzündungszellen, der Fibrosierung, sowie der Leberschädigung zu beobachten (Nguyen-Lefebvre et al. 2018). Diese Ergebnisse sind ein weiterer Beleg für die Beteiligung von TREM-1 an Entzündungsreaktionen. Daher wird der TREM-1-Genotyp bei der Erforschung von entzündlichen Lebererkrankungen in Zukunft eine Rolle spielen.

Im Verlauf des Beobachtungszeitraums gelangen bei den 649 Patienten insgesamt 3243 Keimnachweise; damit wurden bei jedem Patienten durchschnittlich fünf Erreger detektiert. 83 % der Keimnachweise (n = 2683) entfielen auf TT-homozygote Merkmalsträger. Dieser Anteil entspricht dem Anteil an TT-homozygoten Merkmalsträgern (84 %) im untersuchten Kollektiv. Auch die Verteilung der Erregergruppen unterschied sich nicht zwischen den Merkmalsträgern. Am häufigsten wurden mit 45 % gram-positive Bakterien nachgewiesen (Tabelle 16). Bei 78 % der Patienten erfolgte ein Nachweis gram-positiver Erreger, bei 67 % ein Nachweis gram-negativer Bakterien, bei 44 % ein Nachweis von Pilzen und bei 12 % ein Nachweis von Viren (Tabelle 17). Bei A-Allel-Träger wurden seltener Viren nachgewiesen,

dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant. Die Ergebnisse belegen, dass der TREM-1-Genotyp die Suszeptibilität für Erreger nicht maßgeblich beeinflusst.

Als primärer Endpunkt dieser Untersuchung wurde die 90-Tagesmortalität definiert. Dieser verlängerte Untersuchungszeitraum erlaubt eine adäquate Beurteilung des Krankheitsverlaufs eines septischen Patienten. Oftmals wird bei Überlebensanalysen lediglich die 28-Tagesmortalität erhoben, obwohl Experten einen längeren Untersuchungszeitraum empfehlen (Winters et al. 2010; Khamsi 2012; Delano und Ward 2016). Von den 649 Patienten waren nach 90 Tagen 196 Patienten (30 %) verstorben. Bei den TT-homozygoten Merkmalsträgern betrug die 90-Tagesmortalität 31 % und bei den A-Allel-Trägern 28 %. Die erhöhte Mortalität der TT-homozygoten Merkmalsträger entspricht der aufgestellten Hypothese, war aber statistisch nicht signifikant. Ähnliche Befunde ergaben sich für die 28-Tagesmortalität. Während der ersten 28 Tage nach Beginn der Sepsis verstarben 21 % der TT-homozygoten Merkmalsträger und 16 % der A-Allel-Träger. Die Kaplan-Meier-Überlebenskurven (Abbildung 3) flachten im Verlauf der Zeit deutlich ab. Dieser Befund spricht dafür, dass das Risiko zu versterben in der Frühphase der Sepsis am höchsten ist.

Laut dieser Ergebnisse ist ein Einfluss des TREM-1-Genotyps rs2234237 auf die Mortalität bei septischen Patienten auszuschließen. Tendenziell zeigten die Parameter der Krankheitsschwere niedrigere Werte bei den A-Allel-Trägern. Insgesamt gab es in der vorliegenden Studie einige Hinweise auf einen etwas milderen Krankheitsverlauf bei den A-Allel-Trägern. Aufgrund fehlender statistischer Signifikanz ist eine abschließende Bewertung nicht möglich.

In der vorliegenden Arbeit erwies sich der homozygote TT-Genotyp von TREM-1 rs2234237 jedoch nicht als Prädiktor für eine erhöhte Mortalität. Das Alter der Patienten beeinflusste die 90- und 28-Tagesmortalität dagegen signifikant und war somit neben dem SOFA- und APACHE-II-Wert zu Krankheitsbeginn ein relevanter Prädiktor für die Mortalität. Im untersuchten Kollektiv lag das mittlere Alter bei 63 ± 15 Jahren. Die Daten der vorliegenden Studie waren vergleichbar mit denen einer amerikanischen Untersuchung. In dieser Vergleichsstudie zeigten Patienten ≥ 65 Jahre ein 16-fach erhöhtes Risiko, eine Sepsis zu entwickeln, und nach Eintritt einer Sepsis ein 2,3-fach erhöhtes Sterberisiko. Dazu passt, dass die Gruppe der ≥ 65 -Jährigen in den USA im Jahr 2000 12 % der Gesamtbevölkerung ausmachte, aber 65 % der untersuchten Sepsis-Fälle stellte (Martin et al. 2006). Vermutlich beeinflusst das Alter eines Patienten den Verlauf einer Sepsis auf mehreren Ebenen. Dazu zählen eine höhere Rate an Vorerkrankungen oder eine höhere Hospitalisierungsrate ebenso wie Veränderungen der Funktionalität des angeborenen Immunsystems, eine zunehmende Suszeptibilität für Infektionen und eine abnehmende Resilienz gegen Krankheitserreger.

Im Folgenden werden die Limitationen der vorliegenden Arbeit besprochen. Grundsätzlich sind für Genassoziationsstudien große Patientenkollektive unerlässlich. Eine größere Anzahl

an Patienten erhöht die statistische Aussagekraft und die Repräsentativität der Untersuchung. Auch wenn der Effekt des TREM-1-Genotyps rs2234237 auf die 90-Tagesmortalität gering war (28 % bei Trägern des A-Allels und 31 % bei TT homozygoten Merkmalsträgern), muss diskutiert werden, ob bei einem größeren Patientenkollektiv dieser Unterschied signifikant geworden wäre. Eine weiterer Kritikpunkt ist, dass zugunsten der Kollektivhomogenität lediglich kaukasische Patienten in die Studie aufgenommen wurden. Daher sind die Ergebnisse nur bedingt auf ein anderes Kollektiv übertragbar. Die Patientenrekrutierung erfolgte monozentrisch. Dieses Vorgehen schließt zwar den Einfluss verschiedener Arbeitsweisen in unterschiedlichen Einrichtungen aus, schränkt aber die Generalisierbarkeit der Befunde ggf. weiter ein.

Problematisch ist auch, dass die komplexe TREM-1-Signalkaskade nicht vollständig aufgeklärt ist und dass z. B. der Ligand des Rezeptors noch nicht identifiziert wurde (Tessarz und Cerwenka 2008).

Für die vorliegende Arbeit wurde ausschließlich der SNP rs2234237 im TREM-1-Gen untersucht. Für das TREM-1-Gen wurden jedoch noch weitere SNPs beschrieben. Auch diese beeinflussen möglicherweise zusätzlich den klinischen Verlauf einer Sepsis. Trotz des fehlenden Effekts auf den Verlauf einer Sepsis in der vorliegenden Studie wäre es möglich, dass der TREM-1-Genotyp rs2234237 das Risiko, eine Sepsis zu entwickeln, beeinflusst. Dazu müssten septische Patienten mit gesundem Probanden als Referenz verglichen werden. Eine solche Untersuchung ist auch vor dem Hintergrund interessant, dass sich die Patientengruppen bezüglich ihres operativen Status vor der Sepsis-Erkrankung signifikant unterscheiden (vgl. Tabelle 9).

Die Rekrutierung der septischen Patienten für diese Forschungsarbeit erfolgte auf einer anästhesiologischen Intensivstation und einer Intensivstation der Abteilung für Allgemein- und Viszeralchirurgie. Durch diese Rekrutierung wurden möglicherweise vermehrt Patienten eingeschlossen, die sich einer Operation unterzogen hatten. In den 2003 von Engel et al. erhobenen Daten zur Sepsis-Erkrankung wurden neben Patienten von anästhesiologischen und chirurgischen Intensivstationen auch intensivmedizinpflichtige Patienten anderer Fachrichtungen (z. B. Innere Medizin, Neurologie) einbezogen. Von den 415 Patienten mit den damals gültigen Diagnosekriterien für eine schwere Sepsis hatten 22 % eine elektive und 40 % eine notfallmäßige Operation erhalten; 38 % waren konservativ therapiert worden (Engel et al. 2007). Im vorliegenden GenoSep-Kollektiv waren die Patienten zu 29 % elektiv und zu 53 % notfallmäßig operiert worden, nur 18 % waren konservativ behandelt worden. Bei dem Vergleich der Studien muss beachtet werden, dass bei der Untersuchung zur Epidemiologie der Sepsis in Deutschland lediglich Patienten mit einer schweren Sepsis untersucht wurden, wohingegen in die vorliegende Arbeit alle septischen Patienten eingeschlossen wurden. Die Möglichkeit einer vermehrten Inklusion von Patienten mit postoperativem Status in das vorliegende Kollektiv muss bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Zusammenfassend belegen die vorliegenden Befunde, dass der TREM-1-Genotyp rs2234237 den Verlauf und die Mortalität der Sepsis bei den untersuchten kaukasischen Patienten nicht beeinflusst hat. Die SNP-Merkmalausprägung eignet sich daher nicht als Prädiktor für die Schwere oder den Ausgang einer Sepsis. Dieses Ergebnis ist ein weiterer Baustein zum Verständnis des Einflusses genetischer Parameter bei der Pathophysiologie der Sepsis. Untersuchungen deuten eine Beteiligung des TREM-1-Signalwegs an, so dass Akteure der Signalweitergabe mögliche therapeutische Angriffspunkte für eine zielgerichtete Therapie darstellen. Auch könnten andere SNPs im TREM-1-Gen die Mortalität und den Krankheitsverlauf bei einer Sepsis oder bei anderen infektiösen Erkrankungen beeinflussen.

Bezüglich der Vorerkrankungen differierten die beiden Genotyp-Gruppen lediglich bei der Häufigkeit der Myokardinfarkte in der Vorgeschichte (1 % A-Allel-Träger vs. 6 % TT-homozygote Patienten). Laut Cox-Regression beeinflusste diese Variable das Überleben aber nicht. Die Atherosklerose ist eine mögliche Ursache für einen Herzinfarkt. An diesem progredienten chronisch-entzündlichen Vorgang ist sowohl die angeborene als auch die erworbene Immunantwort beteiligt (Weber und Noels 2011). Bei der Entstehung einer Atherosklerose spielt auch der TREM-1-Signalweg eine Rolle (Joffre et al. 2016; Zysset et al. 2016). AA-homozygote Merkmalsträger des TREM-1-SNP rs2234237 wiesen in einem russischen Kollektiv ein signifikant höheres Risiko für eine KHK auf (Golovkin et al. 2014). Dieser Befund widerspricht der vorliegenden Beobachtung, dass A-Allel-Träger seltener Herzinfarkte in der Anamnese aufweisen. Bei dem Vergleich der Studien muss berücksichtigt werden, dass sich das Studiendesign (Golovkin et al. verglichen kranke Patienten mit einem gesunden Kontrollkollektiv), das Patientenkollektiv (es wurde kein Sepsiskollektiv untersucht) und die Fragestellungen erheblich unterschieden. Weiter hatten im GenoSep-Patientenkollektiv lediglich 35 Patienten einen Herzinfarkt in der Vorgeschichte erlitten. Patienten mit einem Herzinfarkt in den vergangenen sechs Wochen wurden aus der Studie ausgeschlossen. Gleichwohl wurde gezeigt, dass Patienten mit Herzinfarkt signifikant höhere sTREM-1-Konzentrationen aufweisen und dass erhöhte TREM-1-Spiegel mit einem erhöhten Sterberisiko einhergehen (Wang et al. 2018). Die mögliche Assoziation zwischen einem Herzinfarkt bzw. Herz-Kreislauf-Erkrankungen und dem TREM-1-Genotyp rs2234237 sollte in Folgestudien untersucht werden. Vergleichbar mit der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Fragestellung, könnte ein potentieller Zusammenhang zwischen dem homozygoten TT-Genotyp und einem erhöhten Risiko für Herzinfarkte bzw. einer niedrigeren Überlebensrate analysiert werden.

5 Zusammenfassung

Bei einer Sepsis kommt es zu lebensbedrohlichen Organdysfunktionen aufgrund einer fehlregulierten Immunreaktion des Organismus auf einen Erreger. Die Sepsis zählt zu den häufigsten Todesursachen auf Intensivstationen. Aufgrund ihrer Epidemiologie und den hohen Behandlungskosten stellt die Sepsis eine erhebliche Belastung für das Gesundheitssystem dar. Die variable klinische Präsentation, die komplexe Therapie und das unterschiedliche Ansprechen der Patienten auf mögliche Interventionen macht die Sepsis zu einer Herausforderung für das medizinische Personal. Der *Triggering receptor expressed on myeloid cells-1* (TREM-1) spielt als Teil der angeborenen Immunantwort eine wichtige Rolle bei Entzündungsreaktionen. Eine Aktivierung bewirkt eine Verstärkung der Immunantwort. Bei einer Sepsis führt eine überschießende Aktivierung und/oder fehlende Inhibierung des Immunsystems zu Organdysfunktionen. Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) spielen bei der Sepsis eine entscheidende Rolle für die Pathophysiologie, das klinische Erscheinungsbild, das Therapieansprechen, den Krankheitsverlauf und die Mortalität. Die Identifikation von SNPs mit relevantem Effekt auf eine Sepsis könnte zur Entwicklung von prognostischen Instrumenten, diagnostischen Tests und zielgerichteten Therapien genutzt werden. Solche Verfahren wären angesichts der Tatsache, dass aktuell standardisierte Tests oder Laborparameter zur Diagnosesicherung und kausalen Therapie für eine Sepsis fehlen, besonders hilfreich.

Derzeit existierten keine Forschungsarbeiten, die die Auswirkung von TREM-1-Variationen auf den Verlauf einer Sepsis untersuchen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der mögliche Effekt des SNP rs2234237 im TREM-1-Gen auf den Krankheitsverlauf, die Krankheitsschwere und die Mortalität bei septischen kaukasischen Patienten untersucht. Die Studie umfasste 649 prospektiv eingeschlossene Patienten, die bei einem intensivmedizinischen Aufenthalt in der Universitätsmedizin Göttingen eine Sepsis entwickelten. Im Verlauf der intensivmedizinischen Therapie wurden Daten zur Krankheitsschwere und zur Mortalität der Patienten erfasst. Die Bestimmung des TREM-1-Genotyps rs2234237 erfolgte mit Hilfe von Blutproben und der *real-time* Polymerase-Kettenreaktion.

In der vorliegenden Arbeit beeinflusste der TREM-1-Genotyp rs2234237 die Mortalität und den Verlauf einer Sepsis-Erkrankung nicht signifikant. Auch konnte der Genotyp nicht als Prädiktor für einen potentiell schweren Verlauf herangezogen werden. Dieses Ergebnis leistet einen Beitrag, die Pathophysiologie der Sepsis und die Bedeutung genetischer Variationen im TREM-1-Gen in diesem Kontext besser zu verstehen. Weitere Untersuchungen zu anderen TREM-1-SNP und zu weiteren Akteuren des TREM-1-Signalwegs sind erforderlich, um die Bedeutung dieses Proteins für die Sepsis zu analysieren.

6 Anhang

Datenbank

durch: _____

Clinical Report Form

Bedeutung genetischer Polymorphismen der angeborenen Immunabwehr bei Sepsis und Organversagen

Zentrum Anästhesiologie, Rettungs- und Intensivmedizin (ZARI)

Robert-Koch-Str. 40, 37099 Göttingen

Projektleiter: Prof. Dr. med. José Hinz

PD Dr. med. Ashham Mansur

Tel.: +49-551-39 22995 (Sekretariat)

Studienärzte: Prof. Dr. med. José Hinz, Tel +49-551-39 22995, Pieper 919-4006

PD Dr. med. Ashham Mansur, Tel +49-551-39 22995, Pieper 919-4049

Richtlinien

Einschlusskriterien

I. Nachweis der Infektion

- Mikrobiologischer Nachweis oder klinische Kriterien

II. Systemisches inflammatorisches Response-Syndrom (mind. 2 Kriterien)

- Fieber ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) oder Hypothermie ($\leq 36^{\circ}\text{C}$)
- Tachykardie (Herzfrequenz ≥ 90 /min)
- Tachypnoe (Atemfrequenz ≥ 20 /min), maschinelle Beatmung oder Hyperventilation ($\text{PaCO}_2 \leq 33$ mmHg)
- Leukozytose (≥ 12000 / mm^3) oder Leukopenie (≤ 4000 / mm^3) oder $\geq 10\%$ unreife Neutrophile im Differentialblutbild

Ausschlusskriterien

- | | | |
|--|------|--------------------------|
| Alter unter 18 Jahre | Nein | <input type="checkbox"/> |
| Bekannte Schwangerschaft | Nein | <input type="checkbox"/> |
| Behandlung mit Immunsuppressiva bzw. Chemotherapie | Nein | <input type="checkbox"/> |
| Bekannter Myokardinfarkt oder Verdacht auf Myokardinfarkt innerhalb der letzten 6 Wochen | Nein | <input type="checkbox"/> |
| Herzinsuffizienz mit NYHA-Klassifikation IV | Nein | <input type="checkbox"/> |
| HIV-Infektion | Nein | <input type="checkbox"/> |
| Bei nichterwartetem Überleben der nächsten 28 Tage aufgrund einer vorbestehenden unheilbaren Erkrankung inklusive: | | <input type="checkbox"/> |
| Nein | | |
| a. Unheilbarem Krebs | | |
| b. Lungenerkrankung im Endstadium | | |
| c. Sauerstoffbedarf in der Häuslichkeit | | |
| d. Nierenerkrankung im Endstadium | | |
| Eine fehlende Bereitschaft des Patienten oder des gesetzlichen Vertreters zur Teilnahme an der Studie | Nein | <input type="checkbox"/> |

Blutentnahme

30 ml Patientenblut Abnahmeort: Arterie Vene

Tag der Blutentnahme

Datum

Anti-CMV IgG neg. pos. __ AU/ml

Anti-CMV IgM neg. pos. __ AU/ml

Genetische Abstammung

Weiß/Kaukasisch

Andere

Krankenhausaufnahme

Datum der Krankenhausaufnahme:

intern

extern

Grund der Krankenhausaufnahme: _____

Datum der Aufnahme auf ICU:

Datum Beginn Sepsis:

Alter des Patienten in Jahren:

Körpergewicht (kg)

Körpergröße (cm)

Operativer Status

Postoperativ nach Notfall-OP Ja Nein

Postoperativ nach elektiver OP Ja Nein

Vorerkrankungen

Kardiovaskulär

- Angina Pectoris
- Arrhythmie
- Vitium
- Myokardinfarkt
- Angeborener Herzfehler
- PAVK
- Arterielle Hypertonie
- Andere (.....)

Atmung

- COPD
- Asthma Bronchiale
- Cystische Fibrose
- Heimbeatmung
- Andere (.....)

Neurologie

- Apoplex
- Demenz
- Andere (.....)

Gastrointestinal

- Lebererkrankung
- Gastrointestinale Blutung
- Andere (.....)

Niere

- Chronisches Nierenversagen
- Andere (.....)

Diabetes mellitus

- Diabetes (insulinabhängig)
- Diabetes (nicht insulinabhängig)
- Diabetes mit Organschäden

Immunsystem

- Tumor
- Lymphom
- Leukämie
- Metastasen
- Rheumatoide Arthritis
- SLE
- Andere (.....)

Andere

- Andere (.....)
- Andere (.....)
- Andere (.....)
- Andere (.....)

Übersicht Röntgen Thorax

Datum	Infiltrate		Lungenödem	
	lokal	lobär	diffus	bilateral
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>				

Substitutionen von:

Ery.-Konzentr. ml/gesamt

Frischplasmen ml/gesamt

PPSB Einheiten/gesamt

Fibrinogen g/gesamt

Tranexamsäure g/gesamt

Albumin g/gesamt

Thrombokonz. ml/gesamt

ICU EntlassungICU Entlassung lebend verstorben

Datum der ICU Entlassung:

 Falls lebend, Entlassung nach: intern extern ICU IMC Normalstation Pflege/Reha

Datum der KH Entlassung:

 Falls verstorben, Todesursache: Herzkreislaufversagen durch Sepsis bedingt Herzkreislaufversagen anderer Ursache Multiorganversagen durch Sepsis bedingt Persistierende oder rezidivierende Sepsis Therapieausstieg (Palliation) andere Ursache: _____

7 Literaturverzeichnis

Aderem A, Ulevitch RJ (2000): Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 406, 782–787

Adhikari NK, Fowler RA, Bhagwanjee S, Rubenfeld GD (2010): Critical care and the global burden of critical illness in adults. *Lancet* 376, 1339–1346

Adukpo S, Gyan BA, Ofori MF, Dodoo D, Velavan TP, Meyer CG (2016): Triggering receptor expressed on myeloid cells 1 (TREM-1) and cytokine gene variants in complicated and uncomplicated malaria. *Trop Med Int Health* 21, 1592–1601

Akanmori BD, Kurtzhals J a. L, Goka BQ, Adabayeri V, Ofori MF, Nkrumah FK, Behr C, Hviid L (2000): Distinct patterns of cytokine regulation in discrete clinical forms of *Plasmodium falciparum* malaria. *Eur Cytokine Netw* 11, 113–8

Alhazzani W, Møller MH, Arabi YM, Loeb M, Gong MN, Fan E, Oczkowski S, Levy MM, Derde L, Dzierba A, et al. (2020): Surviving Sepsis Campaign: guidelines on the management of critically ill adults with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Intensive Care Med* 48, 1–34

Allcock RJN, Barrow AD, Forbes S, Beck S, Trowsdale J (2003): The human TREM gene cluster at 6p21.1 encodes both activating and inhibitory single IgV domain receptors and includes NKp44. *Eur J Immunol* 33, 567–577

Angus DC (2010): The Lingering Consequences of Sepsis: A Hidden Public Health Disaster? *JAMA* 304, 1833–1834

Angus DC, Van der Poll T (2013): Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med* 369, 12

Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR (2001): Epidemiology of severe sepsis in the United States: Analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 29, 1303–1310

Arcaroli J, Fessler MB, Abraham E (2005): Genetic Polymorphisms And Sepsis. *Shock* 24, 300–312

Arunachalam PS, Wimmers F, Mok CKP, Perera RAPM, Scott M, Hagan T, Sigal N, Feng Y, Bristow L, Tak-Yin Tsang O, et al. (2020): Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science* 369, 1210–1220

Azuhata T, Kinoshita K, Kawano D, Komatsu T, Sakurai A, Chiba Y, Tanjho K (2014): Time from admission to initiation of surgery for source control is a critical determinant of survival in patients with gastrointestinal perforation with associated septic shock. *Crit Care* 18, R87

Bagshaw SM, Lapinsky S, Dial S, Arabi Y, Dodek P, Wood G, Ellis P, Guzman J,

- Marshall J, Parrillo JE, et al. (2009): Acute kidney injury in septic shock: clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy. *Intensive Care Med* 35, 871–881
- Bai X, Yu W, Ji W, Lin Z, Tan S, Duan K, Dong Y, Xu L, Li N (2014): Early versus delayed administration of norepinephrine in patients with septic shock. *Crit Care* 18, 532
- Beal AL, Cerra FB (1994): Multiple Organ Failure Syndrome in the 1990s: Systemic Inflammatory Response and Organ Dysfunction. *JAMA* 271, 226–233
- Beutler B (2000): Endotoxin, Toll-like receptor 4, and the afferent limb of innate immunity. *Curr Opin Microbiol* 3, 23–28
- Bianchi ME (2007): DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol* 81, 1–5
- Bleharski JR, Kiessler V, Buonsanti C, Sieling PA, Stenger S, Colonna M, Modlin RL (2003): A Role for Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 in Host Defense During the Early-Induced and Adaptive Phases of the Immune Response. *J Immunol* 170, 3812–3818
- Bloos F, Thomas-Rüddel D, Rüddel H, Engel C, Schwarzkopf D, Marshall JC, Harbarth S, Simon P, Riessen R, Keh D, et al. (2014): Impact of compliance with infection management guidelines on outcome in patients with severe sepsis: a prospective observational multi-center study. *Crit Care* 18, R42
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RMH, Sibbald WJ (1992): Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *CHEST* 101, 1644–1655
- Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA (1997): Sepsis: A New Hypothesis for Pathogenesis of the Disease Process. *CHEST* 112, 235–243
- Boomer JS, To K, Chang KC, Takasu O, Osborne DF, Walton AH, Bricker TL, Jarman SD, Kreisel D, Krupnick AS, et al. (2011): Immunosuppression in Patients Who Die of Sepsis and Multiple Organ Failure. *Jama* 306, 2594–2605
- Boomer JS, Shuherk-Shaffer J, Hotchkiss RS, Green JM (2012): A prospective analysis of lymphocyte phenotype and function over the course of acute sepsis. *Crit Care* 16, R112
- Boomer JS, Green JM, Hotchkiss RS (2014): The changing immune system in sepsis. *Virulence* 5, 45–56
- Bouchon A, Dietrich J, Colonna M (2000): Cutting Edge: Inflammatory Responses Can Be Triggered by TREM-1, a Novel Receptor Expressed on Neutrophils and Monocytes. *J Immunol* 164, 4991–4995
- Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, Colonna M (2001): TREM-1 amplifies

inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature* 410, 1103–1107

Brower RG, Matthay MA, Morris A, Thompson BT, Wheeler A (2000): Ventilation with Lower Tidal Volumes as Compared with Traditional Tidal Volumes for Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 342, 8

Brüssow H (2020): Immunology of COVID-19. *Environ Microbiol* 22, 4895–4908

Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, Qiu Y, Wang J, Liu Y, Wei Y, et al. (2020): Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 395, 507–513

Chen Q, Zhou H, Wu S, Wang H, Lv C, Cheng B, Xie G, Fang X (2008): Lack of association between TREM-1 gene polymorphisms and severe sepsis in a Chinese Han population. *Hum Immunol* 69, 220–226

Cohen J (2001): TREM-1 in sepsis. *The Lancet* 358, 776–778

Cohen J (2002): The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 420, 885–891

Cohen J, Vincent J-L, Adhikari NKJ, Machado FR, Angus DC, Calandra T, Jaton K, Giulieri S, Delaloye J, Opal S, et al. (2015): Sepsis: a roadmap for future research. *Lancet Infect Dis* 15, 581–614

Colonna M, Facchetti F (2003): TREM-1 (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells): A New Player in Acute Inflammatory Responses. *J Infect Dis* 187, S397–S401

Delano MJ, Ward PA (2016): The Immune System's Role in Sepsis Progression, Resolution and Long-Term Outcome. *Immunol Rev* 274, 330–353

Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, et al. (2013): Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock, 2012. *Intensive Care Med* 39, 165–228

Deutschman CS, Tracey KJ (2014): Sepsis: Current Dogma and New Perspectives. *Immunity* 40, 463–475

Durbin RM, Altshuler D, Durbin RM, Abecasis GR, Bentley DR, Chakravarti A, Clark AG, Collins FS, De La Vega FM, Donnelly P, et al. (2010): A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 467, 1061–1073

Elke G, Wang M, Weiler N, Day AG, Heyland DK (2014): Close to recommended caloric and protein intake by enteral nutrition is associated with better clinical outcome of critically ill septic patients: secondary analysis of a large international nutrition database. *Crit Care* 18, R29

Engel C, Brunkhorst FM, Bone H-G, 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

Esper AM, Moss M, Lewis CA, Nisbet R, Mannino DM, Martin GS (2006): The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Crit Care Med* 34, 2576–2582

Ferrer R, Martin-Loeches I, Phillips G, Osborn TM, Townsend S, Dellinger RP, Artigas A, Schorr C, Levy MM (2014): Empiric Antibiotic Treatment Reduces Mortality in Severe Sepsis and Septic Shock From the First Hour: Results From a Guideline-Based Performance Improvement Program*. *Crit Care Med* 42, 1749–1755

Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, Angus DC, Reinhart K (2015): Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med* 193, 259–272

Gibot S, Cravoisy A (2004): Soluble Form of the Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 as a Marker of Microbial Infection. *Clin Med Res* 2, 181–187

Gibot S, Kolopp-Sarda M-N, Béné M-C, Bollaert P-E, Lozniewski A, Mory F, Levy B, Faure GC (2004a): A Soluble Form of the Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 Modulates the Inflammatory Response in Murine Sepsis. *J Exp Med* 200, 1419–1426

Gibot S, Cravoisy A, Levy B, Bene M-C, Faure G, Bollaert P-E (2004b): Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells and the Diagnosis of Pneumonia. *N Engl J Med* 350, 451–458

Gibot S, Alauzet C, Massin F, Sennoune N, Faure GC, Béné M, Lozniewski A, Bollaert P, Lévy B (2006): Modulation of the Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells–1 Pathway during Pneumonia in Rats. *J Infect Dis* 194, 975–983

Gingras M-C, Lapillonne H, Margolin JF (2002): TREM-1, MDL-1, and DAP12 expression is associated with a mature stage of myeloid development. *Mol Immunol* 38, 817–824

Gofton TE, Young GB (2012): Sepsis-associated encephalopathy. *Nat Rev Neurol* 8, 557–566

Golovkin AS, Ponasenko AV, Khutornaya MV, Kutikhin AG, Salakhov RR, Yuzhalin AE, Zhidkova II, Barbarash OL, Barbarash LS (2014): Association of TLR and TREM-1 gene polymorphisms with risk of coronary artery disease in a Russian population. *Gene* 550, 101–109

Gonzaga-Jauregui C, Lupski JR, Gibbs RA (2012): Human Genome Sequencing in Health and Disease. *Annu Rev Med* 63, 35–61

- Guirgis FW, Brakenridge S, Sutchu S, Khadpe JD, Robinson T, Westenbarger R, Topp ST, Kalynych CJ, Reynolds J, Dodani S, et al. (2016): The long-term burden of severe sepsis and septic shock: Sepsis recidivism and organ dysfunction. *J Trauma Acute Care Surg* 81, 525–532
- Guo Y, Gao W, Yang H, Ma C, Sui S (2016): De-escalation of empiric antibiotics in patients with severe sepsis or septic shock: A meta-analysis. *Heart Lung J Cardiopulm Acute Care* 45, 454–459
- Haselmayer P, Daniel M, Tertilt C, Salih HR, Stassen M, Schild H, Radsak MP (2009): Signaling Pathways of the TREM-1- and TLR4-Mediated Neutrophil Oxidative Burst. *J Innate Immun* 1, 582–591
- Henderson WR, Chen L, Amato MBP, Brochard LJ (2017): Fifty Years of Research in ARDS. Respiratory Mechanics in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 196, 822–833
- Hirano T, Murakami M (2020): COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. *Immunity* 52, 731–733
- Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Ezekowitz R a. B (1999): Phylogenetic Perspectives in Innate Immunity. *Science* 284, 1313–1318
- Holmes CL, Russell JA, Walley KR (2003): Genetic Polymorphisms in Sepsis and Septic Shock: Role in Prognosis and Potential for Therapy. *Chest* 124, 1103–1115
- Hotchkiss RS, Karl IE (2003): The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 348, 138–150
- Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, Buchman TG, Karl IE (1999): Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 27, 1230–1251
- Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D (2013): Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis* 13, 260–268
- Ibrahim I (2008): It is time to label sepsis as a public health problem. *J Crit Care* 23, 452–453
- International Human Genome Sequencing Consortium (2004): Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431, 931–945
- Iscimen R, Cartin-Ceba R, Yilmaz M, Khan H, Hubmayr RD, Afessa B, Gajic O (2008): Risk factors for the development of acute lung injury in patients with septic shock: An observational cohort study*. *Crit Care Med* 36, 1518–1522
- Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM (2010): Long-term Cognitive Impairment

and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA* 304, 1787–1794

Joffre J, Potteaux S, Zeboudj L, Loyer X, Boufenzler A, Laurans L, Esposito B, Vandestienne M, de Jager SCA, Hénique C, et al. (2016): Genetic and Pharmacological Inhibition of TREM-1 Limits the Development of Experimental Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 68, 2776–2793

Jung ES, Kim SW, Moon CM, Shin D-J, Son N-H, Kim ES, Lee HJ, Hong SP, Kim TI, Kim WH, Cheon JH (2011): Relationships between genetic polymorphisms of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 and inflammatory bowel diseases in the Korean population. *Life Sci* 89, 289–294

Kawamoto H, Minato N (2004): Myeloid cells. *Int J Biochem Cell Biol* 36, 1374–1379

Kelker MS, Foss TR, Peti W, Teyton L, Kelly JW, Wüthrich K, Wilson IA (2004): Crystal Structure of Human Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 1 (TREM-1) at 1.47Å. *J Mol Biol* 342, 1237–1248

Kellum JA, Lameire N (2013): Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Crit Care* 17, 204

Kempker JA, Martin GS (2020): A global accounting of sepsis. *The Lancet* 395, 168–170

Khamsi R (2012): Execution of sepsis trials needs an overhaul, experts say. *Nat Med* 18, 998–999

Klesney-Tait J, Turnbull IR, Colonna M (2006): The TREM receptor family and signal integration. *Nat Immunol* 7, 1266–1273

Klouwenberg PMCK, Zaal IJ, Spitoni C, Ong DSY, Kooi AW van der, Bonten MJM, Slooter AJC, Cremer OL (2014): The attributable mortality of delirium in critically ill patients: prospective cohort study. *BMJ* 349, g6652

Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE (1985): APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 13, 818–829

Kollef MH, Schuster DP (1995): The Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 332, 27–37

Kramer L, Jordan B, Druml W, Bauer P, Metnitz PGH, for the Austrian Epidemiologic Study on Intensive Care ASG (2007): Incidence and prognosis of early hepatic dysfunction in critically ill patients—A prospective multicenter study. *Crit Care Med* 35, 1099

Kumar Anand, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, et al. (2006): Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*. *Crit Care Med* 34, 1589–1596

- Lee I, Hüttemann M (2014): Energy crisis: the role of oxidative phosphorylation in acute inflammation and sepsis. *Biochim Biophys Acta* 1842, 1579–1586
- Lee LG, Connell CR, Bloch W (1993): Allelic discrimination by nick-translation PCR with fluorogenic probes. *Nucleic Acids Res* 21, 3761–3766
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent J-L, Ramsay G, Conference F the ISD (2003): 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 31, 1250
- Liu C-L, Hsieh W-Y, Wu C-L, Kuo H-T, Lu Y-T (2007): Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in pleural effusions: A marker of inflammatory disease. *Respir Med* 101, 903–909
- Liu D, Wang Q, Zhang H, Cui L, Shen F, Chen Y, Sun Jiali, Gan L, Sun Jianhui, Wang J, et al. (2020): Viral sepsis is a complication in patients with Novel Corona Virus Disease (COVID-19). *Med Drug Discov* 8, 100057
- Mahdy AM, Lowes DA, Galley HF, Bruce JE, Webster NR (2006): Production of Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells by Lipopolysaccharide-Stimulated Human Neutrophils Involves De Novo Protein Synthesis. *Clin Vaccine Immunol* 13, 492–495
- Mansur A, Hinz J, Hillebrecht B, Bergmann I, Popov AF, Ghadimi M, Bauer M, Beissbarth T, Mihm S (2014): Ninety-Day Survival Rate of Patients With Sepsis Relates to Programmed Cell Death 1 Genetic Polymorphism rs11568821. *J Investig Med* 62, 638
- Mansur A, Liese B, Steinau M, Ghadimi M, Bergmann I, Tzvetkov M, Popov AF, Beissbarth T, Bauer M, Hinz J (2015): The CD14 rs2569190 TT Genotype Is Associated with an Improved 30-Day Survival in Patients with Sepsis: A Prospective Observational Cohort Study. *PLoS ONE* 10
- Mario-Vásquez JE, Naranjo-González CA, Montiel J, Zuluaga LM, Vásquez AM, Tobón-Castaño A, Bedoya G, Segura C (2021): Association of variants in IL1B, TLR9, TREM1, IL10RA, and CD3G and Native American ancestry on malaria susceptibility in Colombian populations. *Infect Genet Evol* 87, 104675
- Marshall JC (2001): Inflammation, coagulopathy, and the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med* 29, S99
- Martin GS, Mannino DM, Moss M (2006): The effect of age on the development and outcome of adult sepsis*. *Crit Care Med* 34, 15
- Mayr FB, Yende S, Angus DC (2014): Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* 5, 4–11
- Medzhitov R, Janeway C (2000): Innate immune recognition: mechanisms and pathways.

Immunol Rev 173, 89–97

Metnitz PGH, Le Gall J-R, Steltzer H, Krenn C-G, Lang T, Valentin A (2001): Evaluation of the logistic organ dysfunction system for the assessment of organ dysfunction and mortality in critically ill patients. *Intensive Care Med* 27, 992–998

Mewes C, Büttner B, Hinz J, Alpert A, Popov AF, Ghadimi M, Beissbarth T, Tzvetkov M, Shen-Orr S, Bergmann I, Mansur A (2018): The CTLA-4 rs231775 GG genotype is associated with favorable 90-day survival in Caucasian patients with sepsis. *Sci Rep* 8, 15140

Mewes C, Büttner B, Hinz J, Alpert A, Popov A-F, Ghadimi M, Beissbarth T, Tzvetkov M, Jensen O, Runzheimer J, et al. (2019): CTLA-4 Genetic Variants Predict Survival in Patients with Sepsis. *J Clin Med* 8, 70

Moerer O, Quintel M (2009): Definition, Epidemiologie und ökonomische Aspekte der Sepsis bei Erwachsenen. *Internist* 50, 788–798

Netea MG, Azam T, Ferwerda G, Girardin SE, Kim S-H, Dinarello CA (2006): Triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) amplifies the signals induced by the NACHT-LRR (NLR) pattern recognition receptors. *J Leukoc Biol* 80, 1454–1461

Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.): *Mikrobiologische Diagnostik*. 2. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2009

Nguyen-Lefebvre AT, Ajith A, Portik-Dobos V, Horuzsko DD, Arbab AS, Dzutsev A, Sadek R, Trinchieri G, Horuzsko A (2018): The innate immune receptor TREM-1 promotes liver injury and fibrosis. *J Clin Invest* 128, 4870–4883

Peng L, Li J, Zhou G, Deng L, Yao H (2015): Relationships between genetic polymorphisms of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 and septic shock in a Chinese Han population. *World J Emerg Med* 6, 123–130

Poeze M, Ramsay G, Gerlach H, Rubulotta F, Levy M (2004): An international sepsis survey: a study of doctors' knowledge and perception about sepsis. *Crit Care* 8, R409–R413

Pool R, Gomez H, Kellum JA (2018): Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. *Crit Care Clin* 34, 63–80

Pravda J (2014): Metabolic theory of septic shock. *World J Crit Care Med* 3, 45–54

Prowle JR, Kirwan CJ, Bellomo R (2014): Fluid management for the prevention and attenuation of acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 10, 37–47

Radsak MP, Salih HR, Rammensee H-G, Schild H (2004): Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 in Neutrophil Inflammatory Responses: Differential

Regulation of Activation and Survival. *J Immunol* 172, 4956–4963

Raith EP, Udy AA, Bailey M, McGloughlin S, MacIsaac C, Bellomo R, Pilcher DV, for the Australian and New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) Centre for Outcomes and Resource Evaluation (CORE) (2017): Prognostic Accuracy of the SOFA Score, SIRS Criteria, and qSOFA Score for In-Hospital Mortality Among Adults With Suspected Infection Admitted to the Intensive Care Unit. *JAMA* 317, 290–300

Reinhart K, Brunkhorst FM, Bone H-G, Bardutzky J, Dempfle C-E, Forst H, Gastmeier P, Gerlach H, Gründling M, John S, et al. (2010): Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis: Erste Revision der S2k-Leitlinien der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e.V. (DSG) und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin (DIVI). *Intensivmed Notfallmedizin* 47, 185–207

Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, et al. (2017): Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 43, 304–377

Rivera-Chávez FA, Huebinger RM, Burris A, Liu M-M, Minei JP, Hunt JL, Arnoldo BD, Barber RC (2013): A TREM-1 Polymorphism A/T within the Exon 2 Is Associated with Pneumonia in Burn-Injured Patients. *ISRN Inflamm* 2013, 1–6

Rubulotta FM, Ramsay G, Parker MM, Dellinger RP, Levy MM, Poeze M, Committee on behalf of the SSCS (2009): An international survey: Public awareness and perception of sepsis*. *Crit Care Med* 37, 167–170

Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, Colombara DV, Ikuta KS, Kissoon N, Finfer S, et al. (2020): Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 395, 200–211

Runzheimer J, Mewes C, Büttner B, Hinz J, Popov A-F, Ghadimi M, Kristof K, Beissbarth T, Schamroth J, Tzvetkov M, et al. (2019): Lack of an Association between the Functional Polymorphism TREM-1 rs2234237 and the Clinical Course of Sepsis among Critically Ill Caucasian Patients—A Monocentric Prospective Genetic Association Study. *J Clin Med* 8, 301

Schmutz J, Wheeler J, Grimwood J, Dickson M, Yang J, Caoile C, Bajorek E, Black S, Chan YM, Denys M, et al. (2004): Quality assessment of the human genome sequence. *Nature* 429, 365–368

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. *JAMA* 315, 762–774

- Singer M (2008): Cellular Dysfunction in Sepsis. *Clin Chest Med* 29, 655–660
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche J-D, Coopersmith CM, et al. (2016): The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 315, 801–810
- Sørensen TIA, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW (1988): Genetic and Environmental Influences on Premature Death in Adult Adoptees. *N Engl J Med* 318, 727–732
- Su L, Liu C, Li C, Jiang Z, Xiao K, Zhang X, Li M, Yan P, Feng D, Xie L (2012): Dynamic Changes in Serum Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 (sTREM-1) and its Gene Polymorphisms are Associated with Sepsis Prognosis. *Inflammation* 35, 1833–1843
- Suh HC, Benoukraf T, Shyamsunder P, Yin T, Cao Q, Said J, Lee S, Lim R, Yang H, Salotti J, et al. (2017): LPS independent activation of the pro-inflammatory receptor Trem1 by C/EBP ϵ in granulocytes. *Sci Rep* 7, 46440
- Teasdale G, Jennett B (1974): Assessment Of Coma And Impaired Consciousness: A Practical Scale Assessment. *The Lancet* 304, 81–84
- Tessarz AS, Cerwenka A (2008): The TREM-1/DAP12 pathway. *Immunol Lett* 116, 111–116
- Torio CM, Andrews RM: National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2011: Statistical Brief #160. In: Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs. Agency for Healthcare Research and Quality (US), Rockville (MD) 2013
- van der Poll T, Opal SM (2008): Host-pathogen interactions in sepsis. *Lancet Infect Dis* 8, 32–43
- Vincent J-L (2016): The Clinical Challenge of Sepsis Identification and Monitoring. *PLoS Med* 13, e1002022
- Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG (1996): The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 22, 707–710
- Vincent J-L, de Mendonca 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. *Crit Care Med* 26, 1793–1800

- Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, Moreno R, Carlet J, Le Gall J-R, Payen D, Investigators on behalf of the SO in AIP (2006): Sepsis in European intensive care units: Results of the SOAP study*. *Crit Care Med* 34, 344–353
- Vincent J-L, Opal SM, Marshall JC, Tracey KJ (2013): Sepsis definitions: time for change. *The Lancet* 381, 774–775
- Vincent J-L, Marshall JC, Namendys-Silva SA, François B, Martin-Loeches I, Lipman J, Reinhart K, Antonelli M, Pickkers P, Njimi H, et al. (2014): Assessment of the worldwide burden of critical illness: the Intensive Care Over Nations (ICON) audit. *Lancet Respir Med* 2, 380–386
- Wang X, Quinn PJ (2010): Lipopolysaccharide: Biosynthetic pathway and structure modification. *Prog Lipid Res* 49, 97–107
- Wang YK, Tang JN, Shen YL, Hu B, Zhang CY, Li MH, Chen RZ, Ge JB, Liu XB (2018): Prognostic Utility of Soluble TREM-1 in Predicting Mortality and Cardiovascular Events in Patients With Acute Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc Cardiovasc Cerebrovasc Dis* 7, 1–11
- Weber B, Schuster S, Zysset D, Rihs S, Dickgreber N, Schürch C, Riether C, Siegrist M, Schneider C, Pawelski H, et al. (2014): TREM-1 Deficiency Can Attenuate Disease Severity without Affecting Pathogen Clearance. *PLoS Pathog* 10
- Weber C, Noels H (2011): Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med* 17, 1410–1422
- Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC (2020): Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA* 324, 782–793
- Winters BD, Eberlein M, Leung J, Needham DM, Pronovost PJ, Sevransky JE (2010): Long-term mortality and quality of life in sepsis: A systematic review*. *Crit Care Med* 38, 1276
- Yende S, D'Angelo G, Kellum JA, Weissfeld L, Fine J, Welch RD, Kong L, Carter M, Angus DC (2008): Inflammatory Markers at Hospital Discharge Predict Subsequent Mortality after Pneumonia and Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 177, 1242–1247
- Zhang D, Micek ST, Kollef MH (2015): Time to Appropriate Antibiotic Therapy Is an Independent Determinant of Postinfection ICU and Hospital Lengths of Stay in Patients With Sepsis*. *Crit Care Med* 43, 2133–2140
- Zhang H, Wu L, Ni F, Ji W, Zhou C, Wu J (2014): Critical illness polyneuropathy and myopathy: a systematic review. *Neural Regen Res* 9, 101
- Ziesmann MT, Marshall JC (2018): Multiple Organ Dysfunction: The Defining

Syndrome of Sepsis. *Surg Infect* 19, 184–190

Zysset D, Weber B, Rihs S, Brasseit J, Freigang S, Riether C, Banz Y, Cerwenka A, Simillion C, Marques-Vidal P, et al. (2016): TREM-1 links dyslipidemia to inflammation and lipid deposition in atherosclerosis. *Nat Commun* 7, 13151

Brunkhorst F, Weigand M, Pletz M, Gastmeier P, Lemmen S, Meier-Hellmann A, Ragaller M, Weyland A, Marx G, Bucher M, et al. https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/079-0011_S3_Sepsis-Praevention-Diagnose-Therapie-Nachsorge_2020-03_01.pdf; abgerufen am 12.01.2021

Hardy-Weinberg calculator. https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:CBkOjdtTNMJ:https://www.researchgate.net/profile/Khalid_Hassan10/post/Does_anyone_know_how_to_calculate_Hardy_Weinberg_Equilibrium_for_14_different_alleles/attachment/59d64ad979197b80779a50fd/AS:477303651213312%401490809466020/download/Court%2Blab%2B-%2BHW%2Bcalculator-%2Bimportant.xls+%&cd=1&hl=de&ct=clnk&gl=de; abgerufen am 21.11.2018

rs2234237 RefSNP Report - dbSNP - NCBI. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2234237#frequency_tab; abgerufen am 25.01.2021

Wichtige Informationen zur Real-Time PCR - DE. [//www.thermofisher.com/de/de/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/essentials-real-time-pcr.html](https://www.thermofisher.com/de/de/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/essentials-real-time-pcr.html); abgerufen am 29.01.2021

Danksagung

Prof. Mansur möchte ich meinen großen Dank aussprechen. Ich bedanke mich für die Möglichkeit, bei ihm promovieren zu dürfen. Prof. Mansur nahm mich sofort herzlich und freundlich zugewandt in die Arbeitsgruppe auf und stand mir ab dann fortwährend mit Rat und Tat zur Seite. Neben dem Vermitteln von Kenntnissen über wissenschaftliches Arbeiten, hatte ich durch Prof. Mansur die Möglichkeit, das Berufsfeld und die klinischen Aufgaben eines Anästhesisten näher kennenzulernen. Prof. Mansur war für Rückfragen jederzeit verfügbar. Seine konstruktive Kritik, seine wichtigen Hinweise und seine wohlwollenden Anregungen erlebte ich immer als sehr hilfreich und unterstützend. Darüber hinaus möchte ich mich für die Möglichkeit, meine Ergebnisse zu publizieren, bedanken.

Ebenso gilt mein herzlicher Dank Prof. Hinz, der mir insbesondere viele Hinweise zum Arbeiten mit der Datenbank gegeben hat. Seine fachliche und wissenschaftliche Kompetenz war durchweg hilfreich.

Ich möchte mich bei allen ehemaligen Promovierenden der Arbeitsgruppe für ihre Mitarbeit und das Erstellen der GenoSep-Datenbank bedanken. Dazu zählen Bronja Hillebrecht, Benjamin Liese, Simon Wilmers, Yvonne Klee, Luisa von Gruben, Maximilian Steinau, Evelyn Mulwande, Kristin Ivan, Sebastian Gerber, Fabian Kriesel und Caspar Mewes. Ohne die Möglichkeit, auf viele Patientendaten zurückgreifen zu können, wäre diese genetische Assoziationsstudie schwer umsetzbar gewesen. Meinen speziellen Dank möchte ich Caspar Mewes aussprechen. Nicht nur arbeitete mich Herr Mewes in die täglich zu bewältigende Büroarbeit ein, auch erläuterte er mir die Arbeitsschritte im Labor. Herr Mewes war für Fragen jeglicher Art, insbesondere zur Statistik, immer eine hilfreiche Anlaufstelle.

Des Weiteren bedanken möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Labore der Klinischen Pharmakologie, welche ich für das Erledigen meiner Laborarbeiten nutzen konnte. Insbesondere möchte ich mich hier bei der technischen Assistentin Karoline Jobst bedanken. Frau Jobst versuchte stets, mich bei etwaigen technischen Fragen zu unterstützen und bei Arbeitsabläufen zu beraten.

Mein Dank gilt auch der zuständigen Study Nurse Andrea Kernchen und dem IT-Beauftragten der Anästhesie Thomas Schulze, der zu allen Computer- und Technikfragen stets die richtige Lösung gewusst hat.

Vielen Dank.

Lebenslauf