

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Anästhesiologie und Intensivmedizin
Klinik für Intensivmedizin
Direktor: Prof. Dr. med. Stefan Kluge

Institut für klinische Pharmakologie und Toxikologie
Direktor: Prof. Dr. med. Rainer H. Böger

Die Bedeutung von Dimethylargininen zur Risikostratifizierung in der schweren Sepsis und im septischen Schock

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Gilbert Friedrich Rösler
aus Gera

Hamburg, 2017

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 06.02.2018**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. Stefan Kluge

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. Holger Rhode

gewidmet

meinem Vater

Friedrich Ferdinand Rösler

* 9. August 1941 – † 24. April 2017

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
1.1. Einführung zu den Dimethylargininen.....	7
1.2. Pathophysiologische Bedeutung der Dimethylarginine.....	8
1.3. Abbau und Exkretion von Dimethylargininen.....	10
1.4. Klinische Aspekte erhöhter ADMA -Konzentrationen.....	11
1.5. Sepsis.....	12
1.5.1. Allgemeine Einführung.....	12
1.5.2. Historische Theorien.....	13
1.5.3. Die moderne Sepsisdefinition.....	13
1.5.4. Bedeutung der Wirtsreaktion in der Sepsisdefinition.....	13
1.5.5. Aktuelle Sepsisdefinition („Sepsis-3“).....	16
1.5.6. Sepsisforschung der vergangenen Jahre.....	17
1.5.7. Dimethylarginine in Beziehung zu Sepsis und Inflammation.....	18
1.6. Hypothesen dieser Arbeit.....	19
1.7. Fragestellungen dieser Arbeit.....	20
2. Material und Methoden	21
2.1. Patientenkollektiv.....	21
2.2. Primärer Endpunkt und sekundäre Endpunkte.....	21
2.3. Ein- und Ausschlusskriterien.....	21
2.4. Studienprotokoll und Einwilligungsverfahren.....	22
2.5. Praktische Studiendurchführung.....	22
2.5.1. Blutentnahme.....	22
2.5.2. Dokumentation der Studienparameter.....	23
2.6. Laboranalysen.....	25
2.6.1. Bestimmung der klinischen Routineparameter.....	25
2.6.2. Aufbereitung der entnommenen Blutproben.....	25
2.6.3. Massenspektrometrische Analyse von ADMA & SDMA..	25
2.6.4. Verwendete chemische Reagenzien und Materialien....	26
2.6.5. Verwendete Apparaturen.....	26
2.6.6. Ablauf der analytischen Quantifizierung.....	27
2.7. Statistische Verfahren.....	28

3. Ergebnisse	29
3.1. Charakteristika des Patientenkollektivs.....	29
3.2. Verlauf der ADMA- und SDMA- Plasmakonzentrationen während der intensivmedizinischen Behandlung.....	30
3.3. Korrelationen des Plasma ADMA-Spiegels mit klinischen und laborchemischen Charakteristika.....	31
3.3.1. ADMA Erstmessung (Tag 1) Baseline.....	31
3.3.2. ADMA Zweitmessung (Tag 7).....	32
3.4. Korrelationen des Plasma SDMA-Spiegels mit klinischen und laborchemischen Charakteristika.....	33
3.4.1. SDMA Erstmessung (Tag 1) Baseline.....	33
3.4.2. SDMA Zweitmessung (Tag 7).....	33
3.5. Verlauf der ADMA- und SDMA- Plasmakonzentrationen bei schwerer Sepsis und septischem Schock.....	34
3.6. Betrachtungen von ADMA- und SDMA-Plasmaspiegeln in Zusammenhang mit der 28-Tage Mortalität.....	34
3.6.1. Vergleiche zu klinischen und laborchemischen Charakteristika von Überlebenden und Nicht- Überlebenden.....	34
3.6.2. Verlauf der stetigen Plasma Dimethylarginin-Spiegel zu der 28-Tage Mortalität.....	36
3.6.3. Überlebenszeitanalysen nach dem Kaplan-Meier Verfahren.....	38
3.7. Risikobewertung mittels Cox-Regressions Modell.....	39
3.8. Differenzierung von Risikokollektiven mittels Entscheidungsbaum.....	40

4. Diskussion	42
4.1. Einführung.....	42
4.2. Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentrationen für die Organdysfunktion und als Mortalitätsprädiktor.....	42
4.3. Betrachtung der SDMA-Plasmakonzentrationen im Rahmen von Organdysfunktion und Mortalitätsprädiktion.....	44
5. Zusammenfassung	47
5.1. Deutschsprachige Fassung.....	47
5.2. Englischsprachige Fassung.....	48
6. Abkürzungsverzeichnis	49
7. Literaturverzeichnis	50
8. Anhang	57
8.1. Dokumentationsbogen Studienteilnehmer.....	57
8.2. Scoringdokumentation SAPS II und SOFA.....	58
8.3. Einwilligungserklärungen.....	60
8.3.1. Für Angehörige nicht-einwilligungsfähiger Patienten.....	60
8.3.2. Für einwilligungsfähige Patienten.....	63
8.4. Weitere in der Studie bestimmte Parameter.....	66
9. Danksagung	67
10. Lebenslauf	69
11. Eidesstattliche Versicherung	70

1. Einleitung

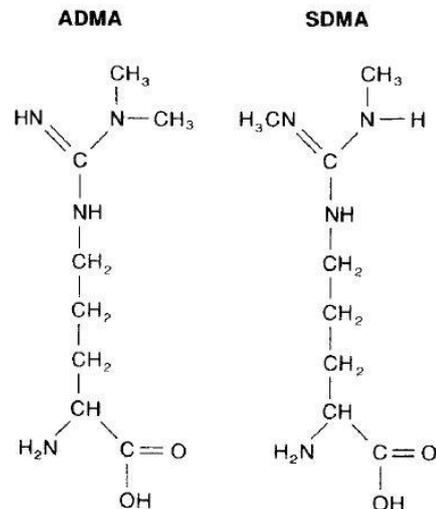
1.1. Einführung zu den Dimethylargininen

Dimethylarginine leiten sich von der Aminosäure L-Arginin ab. Sie sind ein Produkt der proteolytischen Spaltung methylierter Aminosäureketten, die während der Proteinbiosynthese als Folge posttranslationaler Modifikation entstanden sind. Die genannten Modifikationen dienen der Ausbildung einer Tertiärstruktur, welche die entsprechende Proteinfunktion im Organismus definiert (z.B. Histonmethylierung). Enzyme, die Methylgruppen auf proteingebundene L-Arginin Reste übertragen, werden als S-Adenosylmethionin-Protein-Arginin-N-Methyltransferasen oder kurz Protein-Methylasen I und II bezeichnet. Nach proteolytischem Abbau entstehen entsprechend der Anzahl an übertragenen Methylgruppen N-Monomethylarginin (NMMA), symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) und asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) (**Abb. 1**), wobei SDMA durch die Katalyse der Protein-Methylase II und ADMA durch die Protein-Methylase I entstehen (Rawal et al., 1995). Es konnte hierbei nachgewiesen werden, dass die Methylgruppen von S-Adenosylmethionin geliefert werden, einem Zwischenprodukt im Stoffwechsel der Aminosäure Homocystein (Boger et al., 2000b, Sebald and Hauser, 1995)

Im Jahre 1970 wiesen Kakimoto et al. ADMA als Ausscheidungsprodukt im menschlichen Harn nach; damals war man sich der pathogenetischen Bedeutung dieses Moleküls noch nicht bewusst, da die Regulationsmechanismen des Gefäßendothels noch nicht ausreichend erforscht waren (Kakimoto and Akazawa, 1970).

Abbildung 1

Strukturformeln der hier betrachteten Dimethylarginine



Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA), symmetrisches Dimethylarginin (SDMA).

Aus: (Vallance et al., 1992)

1.2. Pathophysiologische Bedeutung der Dimethylarginine

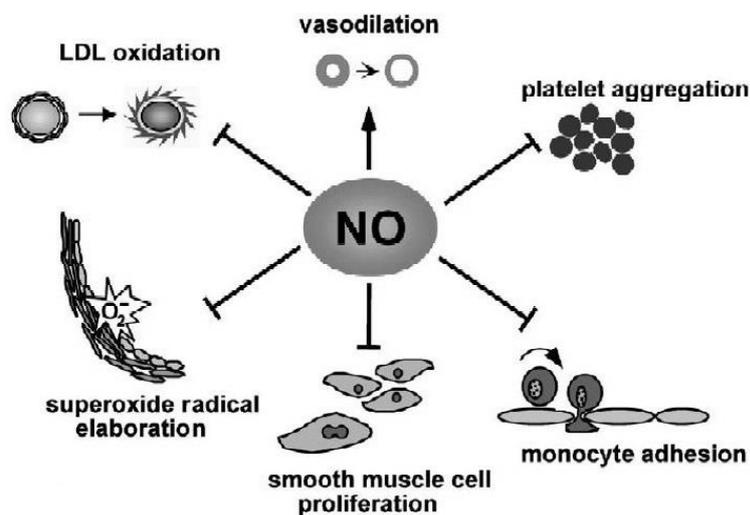
Erst die Entdeckung des Mechanismus der Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur durch einen vom Endothel freigesetzten löslichen Faktor, der später als Stickstoffmonoxid (NO) erkannt wurde, durch Furchgott und Kollegen (Furchgott and Zawadzki, 1980) erlaubte die Feststellung, dass das Gefäßendothel eine tragende Rolle in der Regulation des Gewebemetabolismus spielt (Boger et al., 1996). Darüber hinaus wirkt NO auf Vorgänge ein, die den ungehinderten Blutfluss im Gefäßbett beeinflussen. Es inhibiert die Leukozytenaggregation und damit die Thrombusbildung (Boger, 2003b). Es verhindert die Anhaftung von Monozyten an das Endothel und eine damit verbundene inflammatorische Reaktion, die zur Schädigung und Permeabilitätsänderung der Gefäßwand führt (Boger et al., 2000a). Außerdem wird die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen verlangsamt, um einer

Stenose nach Gefäßschädigungen entgegenzuwirken. Darüber hinaus werden schädigende Einflüsse auf die Gefäßwand abgeschwächt, indem die Bildung freier Superoxidradikale gebremst und die Oxidation von Low-Density-Lipoproteinen (LDL) und Cholesterin mit der dadurch verbundenen Einlagerung in die Intima verhindert werden.

Als Überbegriff für die oben genannten Funktion ist daher von Böger der Begriff des endogenen anti-atherogenen Moleküls implementiert worden (Boger, 2003b).

Abbildung 2

Stickstoffmonoxid als antiatherogenes Molekül



Aus: Böger RH 2003. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as novel risk factor
NO: Nitric Oxide, LDL: Low Density Lipoproteine, O₂⁻: Superoxide radical

Die Synthese von Stickstoffmonoxid ist eng mit dem Stoffwechsel der Aminosäure L-Arginin verbunden, die das Substrat der NO bildenden NO Synthase (NOS) ist, von der verschiedene gewebespezifische Isoformen bekannt sind. Unter physiologischen Bedingungen wird in einer gekoppelten, zweiseitigen Redoxreaktion Arginin zu L-Citrullin katalysiert. Das dabei freigesetzte NO kann nun seine gefäßprotektive Wirkung entfalten.

Ist die Funktion der NOS durch Substrat- oder Co-Faktor Mangel gestört, läuft die oben geschilderte Redoxreaktion nur noch unvollständig ab, es kommt zur

Entstehung schädigender Superoxidradikale (O_2^-) (Vasquez-Vivar et al., 1998). Betrachtet man die Rolle der Methylarginine in diesem Kontext, ist von Vallance et al. festgestellt worden, dass ADMA, jedoch nicht SDMA, in der Lage ist an die L-Arginin Bindungsstelle im aktiven Zentrum der NOS zu binden (Vallance et al., 1992). Da es aber nicht zu NO umgesetzt wird, erfüllt es damit die Kriterien eines kompetitiven Hemmstoffs der NO-Synthase, die unter ADMA Bindung ebenfalls endothelschädigende Superoxidradikale herstellt (Boger, 2003a).

Es ließ sich feststellen, dass eine Überbelastung des Gefäßendothels mit Superoxidradikalen zu einer verstärkten Expression von endothelialen Adhäsionsmolekülen führt, worüber die Anhaftung von Leukozyten aus dem Blutstrom vermittelt wird. Insbesondere die Monozytenmigration in tiefere Schichten der Gefäßwand wird als ein wichtiger Schritt in der Entstehung der Atherosklerose verstanden (Boger et al., 2000a).

In diesem Zusammenhang konnte ein weiteres Phänomen beobachtet werden, wonach Monozyten von Patienten, die eine Hypercholesterinämie als kardiovaskulären Risikofaktor aufwiesen, stärker an die endothelialen Oberflächenmoleküle binden als Monozyten von Personen mit normalen Blutfettwerten. Hypercholesterinämie kann also zu einer stärker ausgeprägten inflammatorischen Schädigung der Blutgefäßwand führen. Interessanterweise konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass unter Gabe von L-Arginin die Monozytenadhäsion rückläufig ist, woraus man schließen kann, dass es bei erhöhten L-Arginin Konzentrationen zur Verdrängung von ADMA im aktiven Zentrum der NOS kommt und wieder mit der Bildung von gefäßprotektivem NO begonnen wird (Chan et al., 2000).

1.3. Abbau und Exkretion von Dimethylargininen

Da ADMA während der posttranslationalen Modifikation von Proteinen intrazellulär entsteht, reichert es sich zytosolisch an und gelangt über cationic amino acid Transporter (CAT) im Verlauf in den Extrazellulärraum und zirkuliert im Plasma (Teerlink, 2005).

ADMA wie SDMA lassen sich im Urin nachweisen (Kakimoto and Akazawa, 1970). Folglich können beide Substanzen renal eliminiert werden. Allerdings steigen die

SDMA-Konzentrationen im Urin von Patienten mit Niereninsuffizienz stärker an als die ADMA-Konzentrationen (Boger and Zoccali, 2003). Als ADMA verstoffwechelndes Enzym konnte die Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) identifiziert werden. Die DDAH katalysiert eine hydrolytische Spaltung von ADMA (nicht von SDMA) zu L-Citrullin und Dimethylamin (Ogawa et al., 1987). Von der DDAH existieren zwei Isoformen, die höchste Dichte in humanen Geweben findet sich in der Leber (Boger et al., 1998b). Anders als für das überwiegend renal ausgeschiedene SDMA, wird der ADMA Metabolismus noch stärker von der Leber und den übrigen Geweben mit DDAH vorkommen beeinflusst. Es wird davon ausgegangen das 80% des ADMA über die Leber verstoffwechselt wird (Teerlink, 2005).

Experimentell konnte der Nachweis geführt werden, dass eine Hemmung der DDAH zur lokalen Konstriktion von Arteriensegmenten führt. Daraus kann gefolgert werden, dass die DDAH-Hemmung zu steigenden ADMA-Konzentrationen führt, da die L-Arginin Bindungsstelle der NOS belegt ist und wie bereits oben erwähnt, die NOS nun dazu anregt wird statt NO, Superoxidradikale zu produzieren. Dieser Vorgang ließ sich durch L-Arginin Substitution wieder aufheben (MacAllister et al., 1996).

Außerdem wurde belegt, dass oxidativer Stress, wie er bei der vermehrten Bildung von Superoxidradikalen auftritt, eine Hemmung der DDAH-Enzymaktivität bewirkt (Ito et al., 1999), die wiederum den Abbau von ADMA hemmt (Stuhlinger et al., 2001).

1.4. Klinische Aspekte erhöhter ADMA-Konzentrationen

Bei erhöhten ADMA-Plasmakonzentrationen kann die endotheliale NOS nicht mehr ausreichend NO produzieren, stattdessen werden vermehrt schädigende Radikale gebildet (Vasquez-Vivar et al., 1998). Dies konnte auch experimentell dadurch untermauert werden, dass eine verminderte Nitratausscheidung im Urin und eine nicht regelrechte endothelvermittelte Vasodilatation die Folge sind (Boger et al., 1997, Boger, 2006). Zudem konnte erwiesen werden, dass Cholesterinablagerungen an den Gefäßwänden das Resultat von oxidativem Stress sind, vermittelt durch die oben genannten Radikale. Tierexperimentell konnte hierzu

bei einer Cholesterinfütterung der Versuchstiere ein gleichgerichteter Zusammenhang zwischen ADMA-Spiegel und Intima-Verdickung der A. carotis gezeigt werden (Boger et al., 1998a).

Auch im menschlichen Organismus gilt die Intima/Media-Dicke der A. carotis als ein Maß für die Progression einer Atherosklerose. Den Zusammenhang zwischen Intima/Media-Dicke und Höhe der ADMA-Plasmakonzentration konnte erstmals bei Dialysepatienten gezeigt werden (Zoccali et al., 2002).

Da ADMA also entsprechend anderer Risikofaktoren wie Hypertonie, Hypercholesterinämie und Rauchen ebenfalls seine schädigende Wirkung an der Gefäßwand entfaltet, ist es zusätzlich als ein weiterer Risikofaktor für eine Schädigung des kardiovaskulären Systems aufzufassen (Boger et al., 1997, Valkonen et al., 2001).

1.5. Sepsis

1.5.1. Allgemeine Einführung

Schwer verlaufende Infektionen sind auch in der heutigen Zeit eines der Kernprobleme der modernen Intensivmedizin. Bezogen auf Deutschland liegt die Inzidenz bei 110 pro 100000 Einwohnern, womit allein 76000 Patienten pro Jahr erkranken (Engel et al., 2007). Die Mortalität der schweren Sepsis und des septischen Schocks konnte in den vergangenen Jahren nicht nachhaltig gesenkt werden. Eine 2012 publizierte Arbeit aus Skandinavien spricht von einer 30-Tagesmortalität von annähernd 40% (Perner et al., 2012). Ähnliche Daten konnten in Deutschland erhoben werden, wo 2013 eine Krankenhausletalität von Patienten mit schwerer Sepsis von 43.6% und mit septischem Schock von 58.8% berichtet wurde (Fleischmann et al., 2016). Da schwere Sepsis und septischer Schock damit immer noch zu den häufigsten Todesursachen auf den Intensivstationen gehören (Engel et al., 2007) und nach wie vor mit hoher Mortalität behaftet sind, handelt es sich auch gegenwärtig um eine aktuelle medizinische und ökonomische Problematik, die noch nicht zufriedenstellend gelöst werden konnte.

1.5.2. Historische Theorien

Im medizinhistorischen Kontext betrachtet geht der Terminus Sepsis, umgangssprachlich häufig auch als Blutvergiftung bezeichnet, bis auf 460-370 v. Chr. zurück und wurde entscheidend durch den Gelehrten Hippokrates geprägt. Der Begriff leitet sich von der griechischen Bezeichnung für "faul machen" ab. Bis in das 19. Jahrhundert hinein kursierten sehr unterschiedliche Theorien über die Entstehung der bis dahin beschriebenen Blutfäule, jedoch erst der französische Chemiker Louis Pasteur vermutete in seinen Arbeiten zwischen 1860 - 1877 einen Zusammenhang mit einzelligen Lebewesen, die er innerhalb seiner Forschungen über Fäulnis und Verwesung entdeckte und als Mikroben bezeichnete (Sebald and Hauser, 1995).

Als Wiege einer moderneren Sepsisdefinition ist auch das damalige Allgemeine Krankenhaus Eppendorf zu nennen, wo Hugo Schottmüller das Vorliegen einer bakteriell induzierten Krankheit postulierte. Er sah das Konzept der Sepsis nicht nur darin begründet, dass eine Ansiedlung und Vermehrung von Bakterien in einem Organ stattgefunden hatte, sondern dass die Erreger von dort in den Blutstrom gelangt sind, womit dem Medium Blut eine zentrale Rolle bei der Entstehung der als Sepsis bezeichneten Erkrankung zukommt (Budelmann, 1969).

1.5.3. Die moderne Sepsisdefinition

Die bis heute grundsätzlich gültige Sepsisdefinition geht auf den amerikanischen Intensivmediziner Roger C. Bone zurück, die er 1989 veröffentlichte und die die Sepsis als eine Invasion von Mikroorganismen und/oder ihrer Toxine in den Blutstrom zusammen mit der Reaktion des Organismus auf diese Invasion deutete (Bone et al., 1989).

1.5.4. Bedeutung der Wirtsreaktion in der Sepsisdefinition

Während die Definition nach Roger C. Bone eine sehr allgemeine Darstellung der Ätiopathogenese aufzeigt, ist 1991 in der Consensus Conference des American

College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine ein genaueres System zur Definition und Diagnose der Sepsis erarbeitet worden. Nicht nur, dass hierbei die klinische Ausprägung und die Schwere der Krankheitsstadien noch detaillierter berücksichtigt werden, sondern es wird erstmals auch trennschärfer differenziert zwischen einer systemischen Entzündungsreaktion, die auch nichtinfektiöse Ursachen in ihre Pathogenese mit einbezieht und der eigentlichen Sepsis in unterschiedlichen Schweregraden. Das beinhaltet zum einen die Einführung weiterführender Definitionen mit Etablierung zusätzlicher Begriffe wie:

Bakteriämie:

Vorkommen lebensfähiger Bakterien im Blut

Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS):

Generalisierte hyperinflammatorische Reaktion unterschiedlicher Ursachen (z.B. Infektion, Verbrennung, Trauma) (siehe auch Kriterium II)

Sepsis:

SIRS hervorgerufen durch eine Infektion

Schwere Sepsis:

Sepsis mit Organdysfunktionen

Septischer Schock:

Sepsis mit Zeichen der hämodynamischen Instabilität

In Anlehnung an die modifizierten Begrifflichkeiten ist von der Konsensuskonferenz mit Anpassungen der Arbeitsgruppe Sepsis der European Society of Intensive Care Medicine ein Kriterienkatalog für die Diagnose der Sepsis entwickelt worden.

Eine schwere Sepsis liegt dann vor, wenn sämtliche der im Folgenden genannten Kriterien erfüllt sind:

Kriterium I. Nachweis eines infektiösen Ursprungs der Inflammation

(mindestens eines der folgenden Kriterien):

- mikrobiologisch gesicherte Infektion
- klinisch gesicherte Infektion
- vermutete Infektion

Kriterium II. Nachweis einer systemischen inflammatorischen Reaktion (SIRS)

(mindestens zwei der folgenden Kriterien):

- Hypo- ($<36^{\circ}\text{C}$) oder Hyperthermie ($>38^{\circ}\text{C}$)
- Tachykardie ($>90/\text{min}$)
- Tachypnoe ($<20/\text{min}$) und/oder arterieller $\text{pCO}_2 < 4,3\text{kPa}$ (33mmHg) und/oder maschinelle Beatmung
- Leukozytose $> 12.000/\mu\text{l}$ oder Leukopenie $<4.000/\mu\text{l}$ und/oder Linksverschiebung ($> 10\%$ unreife Leukozyten) im Differentialblutbild

Kriterium III. Infektionsbezogene Organdysfunktion

(mindestens eines der folgenden Kriterien)

- Akute Enzephalopathie
- Thrombozytopenie [Abfall $\geq 30\%$ in 24h] oder Thrombozytenzahl $\leq 100.000/\text{mm}^3$
- Arterielle Hypoxämie [$\text{P}_a\text{O}_2 \leq 75\text{mmHg}$] unter Raumluft oder [$\text{P}_a\text{O}_2/\text{F}_i\text{O}_2$ Verhältnis $\leq 250\text{mmHg}$] unter Sauerstoffapplikation
- Renale Dysfunktion [Diurese $\leq 0,5\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$ über 2h] trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder Anstieg des Serumkreatinins [$>2\text{x}$ oberhalb des Referenzbereichs]
- Metabolische Azidose [$\text{BE} \leq -5\text{mmol}/\text{l}$] oder Laktatkonzentration $>1,5$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereichs

Kriterium IV. septischer Schock

- Sepsis: Kriterien [I und II]
- Schwere Sepsis: Kriterien [I, II und III]
- Septischer Schock: Kriterien [I und II] sowie syst.

Blutdruck [≤ 90 mmHg] bzw. mittlerer arterieller Blutdruck [≤ 65 mmHg] wenigstens 1 Stunde oder Vasopressoreinsatz, um den syst. Blutdruck [≥ 90 mmHg] oder den mittleren arteriellen Blutdruck [≥ 65 mmHg] zu halten.

Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen erklärbar.

(Bone et al., 1992)

1.5.5. Aktuelle Sepsisdefinition („Sepsis-3“)

Eine unabhängige Expertenkommission hat nunmehr eine aktualisierte Definition, die als „Sepsis-3“ publiziert wurde, erarbeitet. Vorgestellt wurden die neue Sepsisdefinition auf dem Jahreskongress der Society of Critical Care Medicine in Orlando im Februar 2016. Im gleichen Monat wurden sie publiziert (Singer et al., 2016).

Die Sepsis wird jetzt als eine „lebensbedrohliche Organdysfunktion aufgrund einer fehlregulierten Körperantwort auf eine Infektion“ definiert. Damit rücken die klinisch erfassbare Wirtsantwort und die Dysregulation der einzelnen Organsysteme mehr in den Vordergrund, was aus klinischer Sicht sehr zu begrüßen ist.

Die Begriffe „schwere Sepsis“ und „septischer Schock“ beinhalten, dass die Definitionen des Schweregrads maßgeblich durch die Hämodynamik bestimmt waren und die Dysfunktion lebenswichtiger Organsysteme nicht in ausreichendem Maße abgebildet wurden (Levy et al., 2003). Es wurde erkannt, dass die Organdysfunktion eine entscheidende Determinante zur Vorhersage der Sepsismortalität darstellt. Im Sequential Organ Failure Assessment Score (SOFA-Score), mit dem der Grad einer Organdysfunktion auf der Intensivstation bestimmt werden kann, bedeutet ein Anstieg um 2 Punkte eine Erhöhung des Mortalitätsrisikos um 10% (Vincent et al., 1996).

Dies hat dazu geführt, dass man von den sehr sensitiven, jedoch unspezifischen SIRS Kriterien Abstand genommen hat und mit dem „quick SOFA-score“ (qSOFA) ein einfacheres Screeningsystem validiert und implementiert hat (**Tabelle 1**), dass vor allem für die Risikoeinschätzung im präklinischen Bereich und auf den Normalstationen geeignet ist.

Tabelle 1

q-SOFA (quick Sequential Organ Failure Assessment Score)

Atemfrequenz	> 22/min
Bewusstseinsveränderung	vorhanden
Systolischer Blutdruck	< 100 mmHg systolisch

übersetzt nach (Singer et al., 2016)

In der Receiver-Operating-Characteristic-Analyse (ROC-Analyse), in der die Aussagekraft von Laborparametern und Untersuchungsverfahren optimiert und verglichen werden kann, konnte verdeutlicht werden, dass die SOFA Kriterien den SIRS Kriterien überlegen waren.

Außerhalb der Intensivstation präsentierten sich die q-SOFA Kriterien als Screening-Tool gegenüber den SIRS Kriterien in der Vorhersage eines schweren Erkrankungsverlaufes aussagekräftiger (Seymour et al., 2016).

1.5.6. Sepsisforschung der vergangenen Jahre

Bislang sind die Pathophysiologie der Sepsis und der resultierenden Immunantwort nur lückenhaft verstanden. Dies könnte ein Grund dafür sein, dass viele adjunktive Therapieoptionen wie Low Dose Hydrocortison (Annane et al., 2002), Dopamin (Bellomo et al., 2000), intensivierete Insulintherapie (Wiener et al., 2008, Brunkhorst

et al., 2008, Van den Berghe et al., 2006) oder aktiviertes Protein C (Lai and Thompson, 2013) in der Behandlung bislang nicht den erhofften Erfolg erzielen konnten. Weitere therapeutische Ansätze, wie zum Beispiel die Behandlung mit Immunglobulinen (Kreymann et al., 2007), sind noch Gegenstand der aktuellen Forschung. Auf Grund der weiterhin hohen Mortalität, trotz der heute etablierten Therapien, bleibt dem Mediziner vorerst vorausschauend für Personen sensibilisiert zu sein, die ein hohes Risiko aufweisen einen besonders schweren oder sogar tödlichen Verlauf einer Sepsis zu erleiden. Darüber hinaus ist von Kumar et al. erkannt worden, dass Zeitpunkt der Diagnose und des effektiven Therapiebeginns die entscheidenden Determinanten für das Überleben einer Sepsis darstellen (Kumar et al., 2006). Jenes zuvor genannte oft äußerst heterogene Patientenkollektiv könnte bei der Definition von geeigneten Prognoseprädiktoren und Risikofaktoren in Verbindung mit einer früh begonnenen leitliniengerechten Therapie möglicherweise profitieren.

Bemühungen zur Risikostratifizierung der Sepsis finden sich unter anderem bei Levy mit einer an das onkologische TNM-System angelehnten Klassifizierung von Sepsispatienten nach Prädisposition, Ausdehnung, Wirtsantwort und Organdysfunktion („PIRO-Classification“, (Levy et al., 2003)). Weitere Ansätze zur frühzeitigen Sepsisdiagnose finden sich in Untersuchungen, in denen mikrobielle Pathogene mittels eines PCR gestützten Essays identifiziert werden, um frühzeitig eine Infektion zu erkennen und kalkuliert zu behandeln (Schreiber et al., 2013). Die zukünftige Forschung wird daher sicherlich beinhalten, ob neben den bekannten und etablierten Sepsisparametern weitere laborchemische Prädiktoren existieren, die in einer frühen Phase der Inflammation erhoben werden können, um eine frühzeitige und spezifische Behandlung mit entsprechender Reduktion der Gesamtletalität zu ermöglichen.

1.5.7. Dimethylarginine in Beziehung zu Sepsis und Inflammation

Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass ADMA unter septischen Bedingungen in Relation zu gesunden Probanden erhöht im Plasma nachzuweisen ist (Nijveldt et al., 2003b, O'Dwyer et al., 2006, Iapichino et al., 2010). Die durch

Inflammation bedingte Schädigung von Niere und Leber mit der Akkumulation von ADMA und dem dadurch bedingten nachteiligen Einfluss auf den NO-Signalweg ist eine mögliche Erklärung der Genese des Multiorganversagens (Nijveldt et al., 2004).

Durch die fehlende biologische Aktivität des SDMA ist es seltener in Untersuchungen über kritisch kranke Patienten mit Sepsis berücksichtigt worden. Closs und Kollegen haben jedoch herausgefunden, dass Arginine für den zytosolischen Transport im Antiport mit L-Arginin über CAT bzw. über den humanen kationischen Austauschtransporter (hCAT2B) geschleust werden (Closs et al., 1997). Beide Formen der Methylarginine konkurrieren daher um die Bindung an diesen Transporter und damit um die Portierung in die Endothelzelle (Closs et al., 1997). Da erwiesenermaßen SDMA über hCAT2B die Menge des intrazellulären ADMA-Anteils beeinflusst und damit als möglicher sekundärer Regulator mit dem ADMA-NO-Signalweg interferiert, hielten wir es auch für sinnvoll, die symmetrische Form in unsere Betrachtungen mit einzubeziehen.

1.6. Hypothesen dieser Arbeit

ADMA akkumuliert während der Sepsis und stört durch Hemmung der NO Bildung die Mikrozirkulation, was zur Aggravierung einer Organdysfunktion führt, die wiederum für eine Elimination von ADMA wesentlich ist. Die Höhe des ADMA-Plasmaspiegels könnte daher mit der Intensivmortalität innerhalb der schweren Sepsis und des septischen Schocks eng verbunden sein.

SDMA interferiert nicht mit der NO-Synthase und wird nach dem heutigen Stand der Forschung nur über die Niere ausgeschieden. Es dürfte daher geringe Auswirkungen auf die Mikrozirkulation haben und vermittelt wahrscheinlich weniger schädigende Einflüsse in der Sepsis als ADMA. Es ist daher möglicherweise in geringerem Ausmaß dazu geeignet die Sepsismortalität vorherzusagen.

1.7. Fragestellungen dieser Arbeit

1. Wie verändern sich die ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen bei Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock zwischen dem Zeitpunkt der Aufnahme auf die Intensivstation und nach 7 Tagen?
2. In welchem Umfang korrelieren die initialen ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen mit den Scoring-Systemen SOFA und SAPS II und sind sie ihnen bezüglich der Vorhersage der 28-Tage Mortalität überlegen?
3. Ist anhand des Verlaufs der ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen über 7 Tage eine Mortalitätsvorhersage im Sinne einer Risikostratifizierung möglich?
4. Kann anhand der Höhe der initial bestimmten ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen eine Mortalitätswahrscheinlichkeit abgeleitet werden?

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Die dieser Arbeit zugrundeliegende ADMA Sepsis Studie (ADSeS) wurde als prospektive, einarmige Observationsstudie angelegt, um einen ausreichend großen Stichprobenumfang zur statistischen Auswertung zu erreichen. Das Ziel war es, Daten von 120 Patienten in die Untersuchung einfließen zu lassen.

Im Zeitraum April 2012 bis März 2013 wurden 128 Patienten untersucht, auf die die unten genannten Einschlusskriterien zutrafen und die stationär in der Klinik für Intensivmedizin am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) hospitalisiert waren. Daten von 120 Patienten konnten schlussendlich für die Studie berücksichtigt werden.

Die Aufnahme der Patienten erfolgte elektiv chirurgisch, notfallmäßig chirurgisch oder aus internistischen Indikationen. Der Einschluss erfolgte, wenn der Patient schon vor Aufnahme oder im Verlauf der intensivmedizinischen Komplexbehandlung ein septisches Ereignis gemäß den Einschlusskriterien erlitten hatte.

2.2. Primärer Endpunkt und sekundäre Endpunkte

Primärer Endpunkt war das Versterben binnen 28 Tagen nach Aufnahme auf die Intensivstation.

Sekundäre Endpunkte waren der Verlauf der Plasma ADMA- und SDMA-Spiegel über den Zeitraum von 7 Tagen. Die Beziehung von ADMA zu bekannten Sepsisparametern wie C-reaktives Protein (CRP), Interleukin 6 (IL 6) und Procalcitonin (PCT), sowie die Beziehung zur Erkrankungsschwere ausgedrückt in den Scoringsystemen SOFA und SAPS II.

2.3. Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten mit einem Alter über 18 Jahren, auf die die Kriterien der Sepsis Consensus Konferenz (Bone et al., 1992) bzgl. schwerer Sepsis

oder septischem Schock anwendbar waren (siehe auch Abschnitt 1.5.4 Einleitung) Zur Studienteilnahme nicht geeignet waren Patienten im primären kardiogenen Schock, in Schwangerschaft und Stillzeit oder moribunde Personen. Ebenso wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen keine Einwilligung vorlag bzw. diese nachträglich widerrufen wurde oder nicht eingeholt werden konnte.

2.4. Studienprotokoll und Einwilligungsverfahren

Das Studienprotokoll erhielt unter der Identifikationsnummer PV3927 der Ärztekammer Hamburg ein zustimmendes Votum. Die Studie ist auf der Internetseite des U.S. National Institutes of Health (ClinicalTrials.gov) mit dem Identifikationscode NCT01632059 gelistet.

Vor Studienbeginn wurde das schriftliche Einverständnis zur Studienteilnahme eingeholt. Waren die Probanden nicht einwilligungsfähig, erfolgte dies stellvertretend durch Angehörige oder den gesetzlichen Betreuer. Wenn der Patient im Verlauf der Behandlung wieder geschäftsfähig wurde, musste dieser nachträglich schriftlich in die durchgeführte Studie einwilligen. Falls dies nicht der Fall war, wurden die bisher erhobenen Daten gelöscht und das bis dahin gelagerte Probenmaterial vernichtet.

2.5. Praktische Studiendurchführung

2.5.1. Blutentnahme

An den Tagen 1 und 7 wurde zzgl. zur routinemäßigen Blutabnahme auf der Station ein zusätzliches EDTA Röhrchen abgenommen und mittels Zentrifugation aufbereitet und bis zur labormedizinischen Messung eingefroren.

Die laborchemischen Sepsisparameter (IL6, PCT, CRP, Leukozyten) wurden ebenfalls an Tag 1 und 7 über das Routinelabor der klinischen Chemie des UKE bestimmt.

2.5.2. Dokumentation der Studienparameter

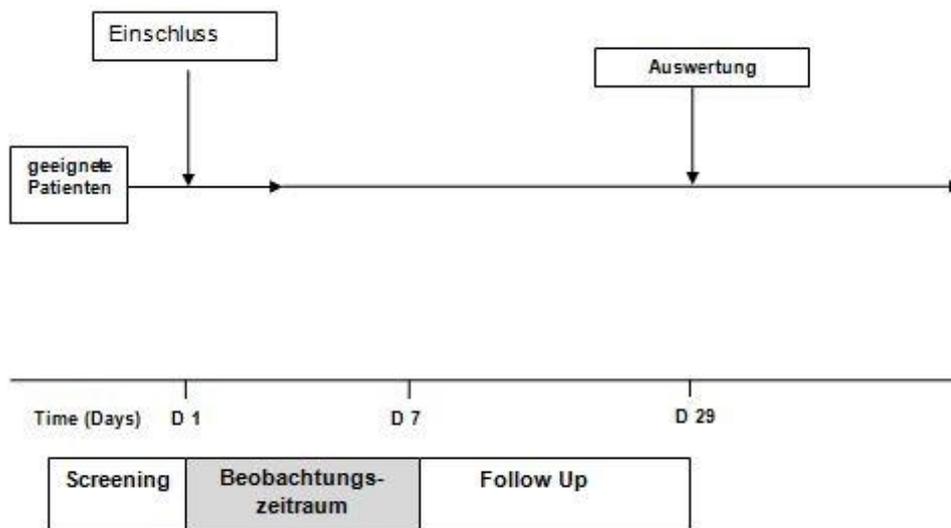
Mit Hilfe des Dokumentationssystems ICM® der Firma Dräger Medical, das die Einsicht in Diagnosen, Behandlungsverlauf, Vitalparameter und Laborwerte ermöglichte, wurden die intensivmedizinisch betreuten Patienten auf Eignung zur Studienteilnahme geprüft.

Der klinische Observationszeitraum betrug sieben Tage. Der Tag, an dem ein Patient in die Studie eingeschlossen wurde, ist als Tag 1 definiert.

An den Observationszeitraum schloss sich ein 28-tägiges Follow Up an, in dem ermittelt wurde, ob der Patient bis dahin verstorben war. Das Studiendesign zeigt **(Abb. 3)**

Abbildung 3

Konzeption und Studiendesign der ADMA Sepsis Studie (ADSeS)



Schematische Darstellung des Studiendesigns der ADMA Sepsis Studie (ADSeS) bezogen auf die Zeit in Tagen. D1: Erster Studientag (Baseline), entspricht Studieneinschlusstag. D7: siebter Studientag. D29: neunundzwanzigster Studientag und Zeitpunkt der Erhebung des Follow Up.

In einer auf Microsoft Excel[®] basierten Datenbank wurden nach Einschluss patientenspezifische Daten erfasst, wie Krankenhaus-Aufnahme, ICU- (Intensive Care Unit) Aufnahme, Hauptdiagnose, vorbestehende Erkrankungen, gemäß SAPS II erfasste Einschränkungen wie maligne Erkrankungen oder HIV Infektion. Zu diesen Stammdaten wurden jeweils an Tag 1 und 7 Vitalparameter, Sepsismarker und Laborparameter bestimmt und in die Datenbank übertragen.

Die erforderlichen SAPS II- und SOFA-Werte wurden für die Tage 1 und 7 errechnet. Der SAPS II und die daraus errechnete prädiktive Mortalität wurden am Aufnahmetag auf der Intensivstation bestimmt. Mikrobiologische Befunde wurden dokumentiert.

Der Datensatz eines Patienten wurde abgeschlossen, wenn das Datum der ICU-Entlassung, der Krankenhausentlassung und das 28 Tage Follow Up in der Datenbank niedergelegt wurden, so dass die Krankenhausverweildauer, die ICU-Liegezeit und die 28 Tage Mortalität errechnet werden konnten.

Der Observationszeitraum bezog sich nur auf den Zeitraum, den der Patient zusammenhängend auf einer der Intensivstationen der Klinik für Intensivmedizin verbracht hatte. Wurde der Patient vor Ablauf der 7 Tage auf die Normalstation oder in eine andere Versorgungseinrichtung verlegt, wurden keine Vital- und Laborparameter der noch ausstehenden Tage erhoben, mit Ausnahme der mikrobiologischen Befunde, der KH-Entlassung und des 28 Tage Follow Up. Verstarb der Patient innerhalb der 7 Tage, wurden diejenigen Tage, an denen Messdaten erhoben werden konnten, berücksichtigt.

Als Überlebende galten diejenigen Patienten, die einen Zeitraum von 28 Tagen nach Aufnahme auf die Intensivstation überlebt hatten, auch wenn sie innerhalb dieses Zeitraumes auf eine Normalstation verlegt worden waren. Als Nicht-Überlebende galten diejenigen Patienten, die binnen 28 Tagen nach Aufnahme auf der Intensivstation verstarben.

2.6. Laboranalysen

2.6.1. Bestimmung der klinischen Routineparameter

Parameter wie Bilirubin, Kreatinin, Harnstoff, CRP, PCT, IL6 und Leukozytenzahl wurden im Rahmen der klinischen Routine durch das Zentrallabor des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin am UKE bestimmt.

2.6.2. Aufbereitung der entnommenen Blutproben

Als Behältnis für das entnommene Patientenblut diente eine Sarstedt Monovette mit EDTA Zusatz. Innerhalb von 30 min nach Entnahme wurden die Monovetten in einer Laborzentrifuge bei 1700 rpm für 1 Stunde zentrifugiert. Im Anschluss wurde der Plasmaüberstand abpipettiert und in einem Eppendorf-Reaktionsgefäß bei minus 70°C eingefroren.

2.6.3 Massenspektrometrische Analyse von ADMA und SDMA

Die Bestimmung von ADMA und SDMA erfolgte durch Flüssigchromatographie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS), wie zuvor von Schwedhelm et al. beschrieben (Schwedhelm et al., 2007). Die EDTA-Plasmaproben wurden zunächst mit einem internen Standard versetzt (deutertes d7-ADMA) und die Proteine wurde mit Methanol gefällt. Anschließend wurden ADMA und SDMA Butylester umgesetzt, um zum einen eine bessere LC-Retention der Analyten zu gewährleisten und zum anderen, um für ADMA und SDMA jeweils spezifische Fragmente in der MS/MS-Analyse zu erhalten.

2.6.4 Verwendete chemische Reagenzien und Materialien

- N- ω -Hydroxy-nor-L-Arginin (nor-NOHA) #399275, Calbiochem GmbH, Bad Soden
- 96well-Filterplatten 0,22 μ m MultiScreen MSGVN 2210, Millipore Merck KGaA, Billerica
- PP Mikrotiterplatten 65021, Greiner Bio One International GmbH, Kremsmünster
- Abdeckmatte für MegaBlock 1,2 mL (rund), 95.1990.002, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
- Acetat-Klebefolie
- epTIPS 100 μ L, Eppendorf AG, Hamburg
- Eppendorf 8-Kanal Transferpipette 20 bis 200 μ L, Eppendorf AG, Hamburg
- Multipette, Brand GmbH + Co KG, Wertheim
- Acetonitril, gradient grade, Sigma-Aldrich, St. Louis
- Wasser, gradient grade, J.T. Baker, Deventer
- Astec Chirobiotic T Vorsäule 20x1.0 mm 12101, Sigma-Aldrich, St. Louis
- Butanolische Salzsäure, pH 1, interne Herstellung
- Methanol Wasser 50:50, pH 5 (gepuffert mit HCOOH/NH₃), interne Herstellung
- Deuteriertes d₇-ADMA, Cambridge Isotope Labs, EURISO-Top, Cambridge Isotope Laboratories Europe GmbH, Radeberg
- ADMA
- SDMA

2.6.5. Verwendete Apparaturen

- Varian L1200 MS/MS inkl. Computer und Drucker, Varian Medical Systems, Palo Alto, USA
- HPLC Varian ProStar, Varian Medical Systems, Palo Alto, USA
- Eppendorf Zentrifuge 5810R, Eppendorf AG, Hamburg
- Heizblock

2.6.6 Ablauf der analytischen Quantifizierung

Der interne Standard, der bei -20°C aufbewahrt wird und das nach Zentrifugation eingefrorene Blutplasma wurden zur Analyse auf Raumtemperatur gebracht. Es folgte die Verdünnung der Stocklösung des internen Standards mit 1:1000 Methanol. Im Anschluss wurde eine Multiscreen 96well Filterplatte auf der 96well Unterplatte positioniert und jeweils $100\ \mu\text{L}$ vom verdünnten Standard in die Vertiefung der 96well Filterplatte mittels Multipipette pipettiert. Nach Zugabe von $25\ \mu\text{L}$ Kalibrierlösung, der Qualitätskontrollen und des Plasmas aus den entsprechenden Patientenproben wurde die Platte bei Raumtemperatur 15 min geschüttelt. Pro Platte wurden dann maximal 92 Proben und 4 Qualitätskontrollen (DLD Con 1+2, $n=2$) pipettiert. Pro Messzyklus wurden je zwei Kalibrierkurven (DLD KIT 112 und Doro) mit Punkten für ADMA und SDMA erstellt. Nach Abdeckung mit einer Polypropylenplatte wurde bei 2000 rpm die Multiscreen Filterplatte für 15 min zentrifugiert. Auf einem auf 75°C vorgewärmten Heizblock wurden die Flüssigkeiten über 30 min verdampft. Bevor die Platte zur quantitativen Derivatisierung verschlossen wurde, wurden jeweils $100\ \mu\text{L}$ butanolische Salzsäure zugegeben und die abgedeckte Filterplatte bei 65°C 30 min auf dem Heizblock gewärmt. Im Anschluss erfolgte eine weitere Zentrifugation der Platte bei 2500 rpm bei 4°C für 1 min. und nach Entfernung der Abdeckmatte dann das Verdampfen der butanolischen Salzsäure bei 75°C für 60 min auf dem Heizblock.

Die Mehrkanalpipette musste vor der Messung mit $(\text{HCOOH}/\text{NH}_3)$ auf pH 5 gepuffert werden. In jedes Well der Filterplatte wurde darüber hinaus mit der Pipette $100\ \mu\text{L}$ Methanol/Wasser 50/50 (v/v) verbracht. Da die Analyte gelöst werden müssen, wurden die Multiscreen 96well Filterplatten mit Folie verschlossen und bei Raumtemperatur 30 min geschüttelt. Im Anschluss erfolgte die Pipettierung der Proben auf eine neue Multiscreen 96well Filterplatte und eine Zentrifugation bei 2000 rpm bei 4°C für 5 min.

Nun erfolgte die Messung der 96well Platte im Varian L1200 MS/MS Massenspektrometer. Die Messung wurde isokratisch mit den HPLC Varian Pro Star Pumpen mit 66% Acetonitril und 33% (0,1%iger) Ameisensäure durchgeführt. Die Berechnung der Analyseergebnisse erfolgte durch die StarWorkstation. Der Variationskoeffizient des Assays betrug 3%. Die Nachweisgrenze lag bei $0,05\ \mu\text{M}$.

Im Falle einer Streuung der Qualitätskontrolle über 20% für Accuracy und Precision war die Wiederholung der Messreihe für die gesamte Platte erforderlich.

2.7. Statistische Verfahren

Statistische Analyse: Stetige Variablen sind als Mittelwert (\pm Standardabweichung) beziehungsweise Median (Interquartilsabstand) dargestellt. Für kategoriale Variablen erfolgt eine Darstellung als Häufigkeit. Schief verteilte Daten wurden, wenn sinnvoll, für die Auswertung log-transformiert. Für die Bestimmung von Zusammenhängen wurde die Pearson-Korrelation berechnet. Paarweise Vergleiche wurden mittels Welch-Test oder Mann-Whitney U-Test durchgeführt, wie jeweils anwendbar.

Überlebensanalysen wurden mittels Kaplan-Meyer-Verfahren und Cox proportional hazard regression durchgeführt. An Tag 1 (Baseline) bestimmte ADMA-Konzentrationen wurden in Quartile aufgeteilt, das 4. Quartil wurde als hoher ADMA-Spiegel eingestuft (ADMA > 0.97 $\mu\text{mol/L}$ [75. Perzentile]). An Tag 1 bestimmte SDMA-Konzentrationen (Baseline) wurden ebenfalls in Quartile aufgeteilt, das 1. Quartil wurde als niedrig eingestuft und war definiert als (SDMA < 0.65 $\mu\text{mol/L}$ [25. Perzentile]), die 2. und 3. Quartile wurden definiert als mittleres Quartil und das 4. Quartil wurde definiert als hoher SDMA-Spiegel (> 1.34 $\mu\text{mol/L}$ [75. Perzentile])

Zusätzlich wurde eine genauere Analyse des Zusammenhanges zwischen ADMA/SDMA sowie der 28-Tage Mortalität mittels alters-, geschlechts-, GFR und SAPS II-adjustierter Cox-Regressions-Modelle durchgeführt.

Für alle Analysen entspricht ein p-Wert von 0.05 statistischer Signifikanz.

Für alle Berechnungen wurde IBM SPSS Version 21 (SPSS Inc. Cary, NC, USA) benutzt.

3. Ergebnisse

3.1. Charakteristika des Patientenkollektivs (siehe **Tabelle 2**)

Tabelle 2

Demografische Daten und Patientencharakteristika

	(n)	(%)
Gesamt	120	
Geschlecht		
Männlich	86	72%
Weiblich	34	28%
Gewicht [kg]	79,4 (\pm 15)	
ICU		
Zuweisungsgrund		
Internistisch	64	53%
Elektiv chirurgisch	30	25%
Ungeplant chirurgisch	26	22%
SAPS II Score	40,53 (\pm 18,7)	
SOFA Score	8,83 (\pm 4,12)	
Schwere Sepsis	57	48%
Septischer Schock	63	52%
Sepsisfokus (klinisch)		
Pulmonal	55	46%
Intraabdominell	33	28%
Urogenital	11	9%
Andere	21	17%

Fortsetzung

Tabelle 2

	Alle Patienten	Überlebende	Nicht-Überlebende
	120	85	35
SOFA Score	8,8 (± 4,1)	8,39 (±3,8)	9,9 (±4,6)
SAPS II Score	40,5 (± 18,7)	37 (±17,2)	49 (±19,9)
ADMA [$\mu\text{mol/l}$]	0,9 [0,3-3,6]	0,7 [0,3-1,8]	1,1 [0,3-3,5]
SDMA [$\mu\text{mol/l}$]	1,4 [0,2-5]	1 [0,2-5,0]	1,4 [0,3-3,5]
CRP [mg/dl]	187,7 [8-466]	187,4 [8-466]	188,4 [46-348]
Leukozyten [Mrd./l]	13,7 [0,1-50,4]	14,5 [0,1-50,4]	12,0 [0,2-31,5]
Procalcitonin [$\mu\text{g/l}$]	16,7[0,1-692,5]	9,3 [0,1-187]	34,7 [0,35-692,5]

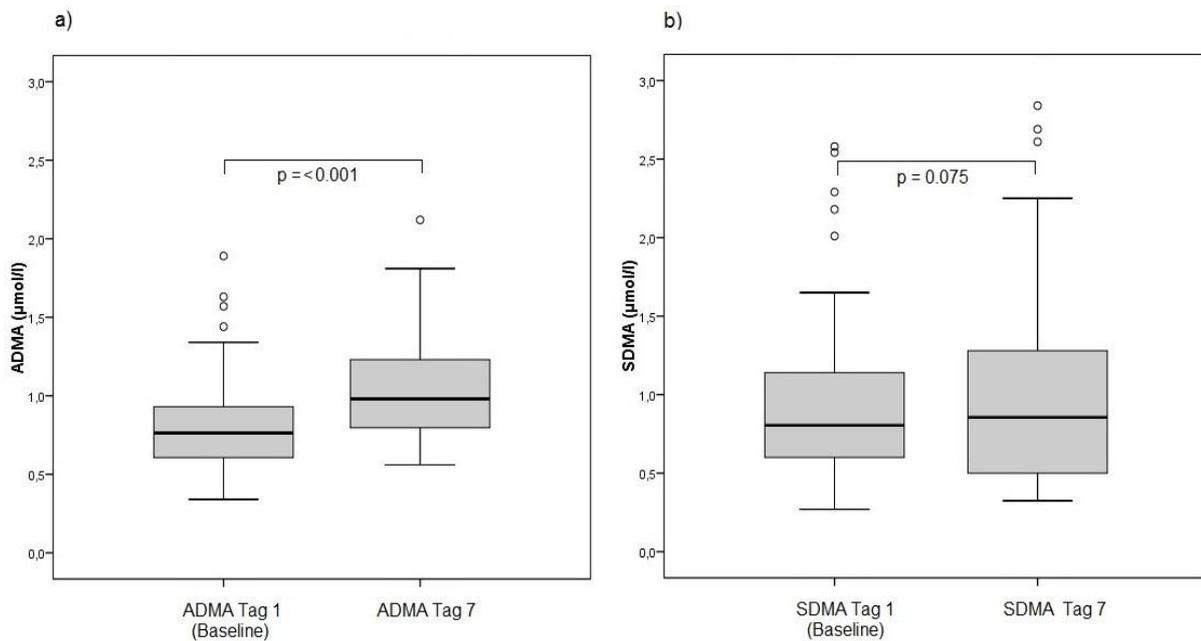
Daten sind entweder als absolute Werte oder als Mittelwerte mit der Standardabweichung in Klammern angegeben. Laborparameter sind als Mittelwerte mit Interquartilsabständen in Klammern angegeben. SAPS II Score = Simplified Acute Physiology Score. SOFA-Score = Sequential Organ Failure Assessment Score

3.2. Verlauf der ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen während der intensivmedizinischen Behandlung

Die ADMA-Konzentrationen innerhalb Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock während der intensivmedizinischen Behandlung zeigen einen signifikanten Anstieg im Verlauf von 7 Tagen in Relation zum Ausgangswert ($p < 0.001$) (**Abb. 1a**). Ein signifikanter Anstieg von SDMA lässt sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 7 Tagen jedoch nicht nachweisen ($p = 0,075$). (**Abb. 1b**).

Abbildung 1

Zeitlicher Verlauf der ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen



Plasma ADMA- ($\mu\text{mol/l}$) (a) und SDMA- ($\mu\text{mol/l}$) Konzentrationen (b) Messungen an Tag 1 (Baseline) und an Tag 7. ADMA: Asymmetrisches Dimethylarginin, SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin

3.3. Korrelationen des Plasma ADMA-Spiegels mit klinischen und laborchemischen Charakteristika

3.3.1. ADMA Erstmessung (Tag 1) Baseline

Die ADMA-Plasmaspiegel korrelieren an Tag 1 mit der Erkrankungsschwere (SAPS II Score ($r=0.33$, $p<0.001$)) und der Organdysfunktion (SOFA-Score ($r=0.25$, $p=0.006$)).

Im Hinblick auf spezifische Organfunktionen korreliert ADMA an Tag 1 signifikant mit dem Harnstoff ($r=0.33$, $p<0.001$), jedoch nicht mit dem Kreatinin ($r=0.12$, $p=0.205$).

Bezogen auf die hepatische Funktion zeigt sich für ADMA an Tag 1 eine signifikante Korrelation mit Bilirubin ($r=0.43$, $p<0.001$) und der INR ($r=0.39$, $p=0.01$).

Mit den typischen Entzündungsparametern CRP ($r=-0.05$, $p=0.57$), Leukozytenzahl ($r=0.02$, $p=0.82$), IL6 ($r=0.14$, $p=0.13$) und dem Infektionsmarker PCT ($r=-0.038$, $p=0.07$) ergibt sich an Tag 1 keine signifikante Korrelation.

ADMA und SDMA sind signifikant an Tag 1 ($r=0.42$, $p<0.001$) korreliert.

3.3.2. ADMA Zweitmessung (Tag 7)

An Tag 7 sind die ADMA-Plasmaspiegel ebenfalls mit dem Grad der Erkrankungsschwere (SAPS II Score ($r=0.38$, $p=0.001$)) und der Organdysfunktion (SOFA Score ($r=0.4$, $p<0.001$)) deutlich korreliert.

Bezüglich der renalen Funktion ist ADMA auch an Tag 7 mit dem Harnstoff ($r=0.27$, $p=0.02$) und mit dem Kreatinin ($r=0.43$, $p<0.001$) korreliert.

Bezogen auf die hepatische Funktion zeigen sich die ADMA-Plasmakonzentrationen an Tag 7 im Vergleich zu Tag 1 deutlich korreliert (Bilirubin: $r=0.65$, $p<0.001$ und INR: $r=0.91$, $p<0.001$).

Für die inflammatorischen Marker lässt sich an Tag 7 eine Korrelation mit IL 6 ($r=0.44$, $p=0.01$), PCT ($r=0.31$, $p=0.008$) und Leukozyten ($r=0.46$, $p<0.001$), allerdings keine mit CRP ($r=-0.12$, $p=0.32$) aufzeigen.

ADMA selbst korreliert auch an Tag 7 mit dem zweitbetrachteten Parameter SDMA signifikant ($r=0.52$, $p<0.001$)

3.4. Korrelationen des Plasma SDMA-Spiegels mit klinischen und laborchemischen Charakteristika

3.4.1. SDMA Erstmessung (Tag 1) Baseline

Die SDMA-Plasmaspiegel an Tag 1 korrelieren mit dem SAPS II Score ($r=0.22$, $p=0.02$) als Ausdruck der Erkrankungsschwere und nicht mit dem SOFA Score ($r=0.00$, $p=1$). Bezüglich der Nierenfunktion zeigt sich, dass SDMA an Tag 1 mit den Kreatinin- ($r=0.62$, $p<0.001$) und Harnstoffwerten signifikant ($r=0.67$, $p<0.001$) korreliert.

An Tag 1 bzw. in der Frühphase der schweren Sepsis und des septischen Schocks korreliert SDMA nicht mit den Markern der hepatischen Funktion Bilirubin und INR ($r=0.09$, $p=0.32$, bzw. $r=0.06$, $p=0.49$). Bezüglich der Entzündungs- bzw. Infektionsmarker ist SDMA mit CRP ($r=0.11$, $p=0.24$), Leukozytenzahl ($r=0.02$, $p=0.79$), IL 6 ($r=0.12$, $p=0.19$) und PCT ($r=0.11$, $p=0.24$) nicht korreliert. SDMA ist mit ADMA signifikant an Tag 1 korreliert ($r=0.42$, $p<0.001$).

3.4.2. SDMA Zweitmessung (Tag 7)

Die SDMA-Werte an Tag 7 korrelieren bzgl. Erkrankungsschwere mit dem SAPS II Score ($r=0.62$, $p<0.001$) und im Gegensatz zu Tag 1 ebenfalls mit dem Score der allgemeinen Organdysfunktion SOFA ($r=0.54$, $p<0.001$).

Im Hinblick auf die Nierenfunktion korreliert SDMA an Tag 7 ähnlich wie an Tag 1 mit Kreatinin ($r=0.6$, $p<0.001$) und Harnstoff ($r=0.71$, $p<0.001$).

Ebenfalls hat sich an Tag 7 eine Korrelation zwischen SDMA zu den Markern der hepatischen Funktion Bilirubin ($r=0.28$, $p=0.02$) und INR ($r=0.42$, $p<0.001$) eingestellt.

Von den Entzündungs- bzw. Infektionsparametern sind an Tag 7 PCT ($r=0.52$, $p<0.001$) und IL 6 ($r=0.28$, $p=0.02$) signifikant mit SDMA korreliert. Kein Zusammenhang findet sich hingegen zum CRP ($r=0.08$, $p=0.52$) und der Leukozytenzahl ($r=0.2$, $p=0.09$).

SDMA ist auch an Tag 7 mit ADMA signifikant korreliert ($r=0.52$, $p>0.001$)

3.5. Verlauf der ADMA- und SDMA- Plasmakonzentrationen bei schwerer Sepsis und septischem Schock

Die Analyse der ADMA-Plasmakonzentration bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock zeigt einen signifikanten Anstieg (34.1%, 95% CI [22.9%, 38.0%], $p < 0.001$) innerhalb der 7 Tage nach Aufnahme. Für den SDMA-Spiegel ist kein signifikanter Unterschied zwischen den Zeitpunkten nachweisbar (-5.4%, 95% CI [-15.5%, 5.6%], $p = 0.331$).

Sowohl für ADMA als auch für SDMA wurden bei den Nicht-Überlebenden signifikant höhere Werte als bei den Überlebenden gemessen (33.3%, 95% CI [14.6%, 55.0%], $p < 0.001$; 49.7%, 95% CI [19.8%, 86.9%], $p < 0.001$). Es gab keine signifikanten Interaktionen zwischen 28-Tage Überleben zur Messung an Tag 1 und Tag 7.

3.6. Betrachtungen von ADMA- und SDMA-Plasmaspiegeln im Zusammenhang mit der 28-Tage Mortalität

3.6.1. Vergleiche zu klinischen und laborchemischen Charakteristika zwischen Überlebenden und Nicht-Überlebenden

Die Ergebnisse (p-Werte) des paarweisen Vergleichs von Überlebenden zu Nicht-Überlebenden sowie das Verhalten der erhobenen Laborparameter für den Studientag 1 zeigt **Tabelle 3**, für den Studientag 7 **Tabelle 4**.

Tabelle 3

Klinische und laborchemische Charakteristika an Tag 1 aufgeteilt nach Überlebenden und Nicht-Überlebenden

Tag 1	<u>Überlebende</u>		<u>Nicht-Überlebende</u>		T-Test*/ Mann- Whitney-U Test**
Parameter	Median	Interquartilsabstand	Median	Interquartilsabstand	p-Wert
ADMA	0,73	(0,60-0,87)	0,93	(0,63-1,34)	0,007*
SDMA	0,81	(0,59-1,15)	1,11	(0,88-1,52)	0,005*
SOFA	8	(5-11,5)	8	(6-14)	0,091**
SAPS II	36	(24-47,5)	49	(34-66)	0,003**
Kreatinin	1,1	(0,7-2,05)	1,7	(1,0-2,5)	0,142*
Harnstoff	20	(14-34)	33	(17-55)	0,031*
Bilirubin	0,5	(0,3-1,0)	1,4	(0,6-2,9)	<0,001*
CRP	187	(97,5-255)	186	(130-241)	0,808**
IL 6	168	(59,0-514,2)	388	(114-1000)	0,007*
PCT	1,4	(0,49-6,86)	5,2	(1,3-18,2)	0,003*
INR	1,12	(1,04-1,25)	1,2	(1,0-1,4)	0,118*

Alle Werte sind als Mediane mit den zugehörigen Interquartilsabständen in Klammern angegeben. Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, CRP wurden in mg/dl, PCT in µg/l, IL6 in ng/l gemessen. SOFA=Sequential Organ Failure Assesment, SAPS II =Simplified Acute Physiology Score. p-Werte des T-Tests sind mit (*) dargestellt, p-Werte für nichtparametrische Variablen wurden mittels Mann-Whitney-U Test bestimmt und mit (**) dargestellt. ADMA: Asymmetrisches Dimethylarginin, SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, SAPS II: Simplified Acute Physiology Score II, CRP: C-Reaktives Protein, IL6: Interleukin 6, PCT: Procalcitonin, INR: International Normalized Ratio.

Tabelle 4

Klinische und laborchemische Charakteristika an Tag 7 aufgeteilt nach Überlebenden und Nicht-Überlebenden

Tag 7	<u>Überlebende</u>		<u>Nicht Überlebende</u>		T-Test*/ Mann- Whitney-U Test**
Parameter	Median	Interquartilsabstand	Median	Interquartilsabstand	p-Wert
ADMA	0,94	(0,79-1,17)	1,14	(0,88-1,68)	0,035*
SDMA	0,67	(0,48-1,0)	1,31	(0,93-2,21)	<0,001*

SOFA	6	(4-10)	13	(11-14)	<0,001**
SAPS II	31	(20-50)	70	(59-73)	<0,001**
Kreatinin	0,9	(0,6-1,2)	1,5	(0,87-1,93)	0,011*
Harnstoff	21	(16-32)	37	(20,0-64,5)	0,007*
Bilirubin	0,4	(0,2-1,0)	1,9	(0,7-3,2)	<0,001*
CRP	68	(30-143)	120	(88-167)	0,035**
IL 6	41,6	(20,8-103,0)	202	(57,4-1050)	<0,001*
PCT	0,31	(0,17-0,56)	2,01	(0,76-5,51)	<0,001*
INR	1,06	(0,98-1,11)	1,13	(1,04-1,30)	0,051*

Alle Werte sind als Mediane mit den zugehörigen Interquartilsabständen in Klammern angegeben. Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, CRP wurden in mg/dl, PCT in µg/l, IL6 in ng/l gemessen. SOFA=Sequential Organ Failure Assessment, SAPS II =Simplified Acute Physiology Score. p-Werte des T-Tests sind mit (*) dargestellt, p-Werte für nichtparametrische Variablen wurden mittels Mann-Whitney-U Test bestimmt und mit (**) dargestellt. ADMA: Asymmetrisches Dimethylarginin, SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin, SOFA: Sequential Organ Failure Assessment, SAPS II: Simplified Acute Physiology Score II, CRP: C-Reaktives Protein, IL6: Interleukin 6, PCT: Procalcitonin, INR: International Normalized Ratio.

3.6.2. Verlauf der stetigen Plasma Dimethylarginin-Spiegel zu der 28-Tage Mortalität

Sowohl für ADMA als auch für SDMA wurden bei den Nicht-Überlebenden signifikant höhere Werte als bei den Überlebenden gemessen (33.3%, 95% CI [14.6%, 55.0%],

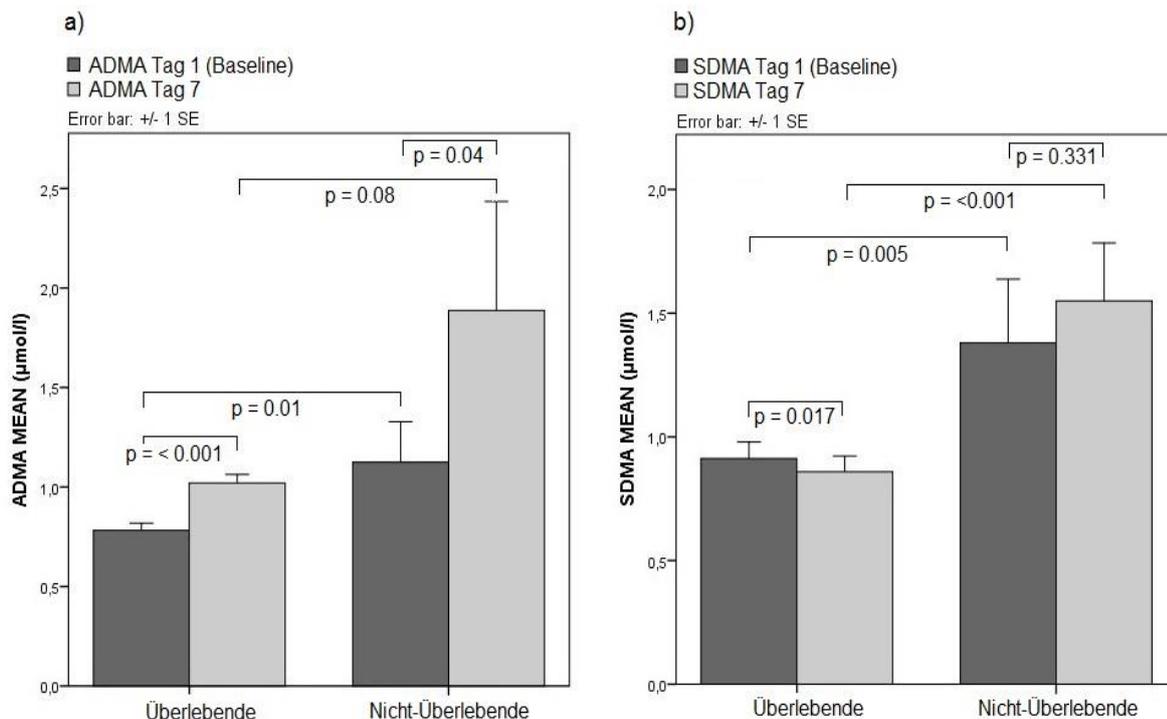
Für beide Kollektive ergibt sich ein signifikanter Anstieg des Plasma ADMA-Spiegels im Verlauf von 7 Tagen. Hierzu ergaben sich die folgenden p-Werte bei Überlebenden ($p < 0.001$) und bei Nicht-Überlebenden ($p = 0.04$) (**Abb. 2a**).

Vergleiche des an Tag 1 bestimmten Plasma ADMA-Spiegels zwischen den Gruppen der Überlebenden und der Nicht-Überlebenden zeigen für Nicht-Überlebende signifikant höhere Plasma ADMA-Spiegel ($p = 0.01$) als für Überlebende. An Tag 7 unterscheiden sich die Plasma ADMA-Werte in den Kollektiven nicht mehr signifikant ($p = 0.08$) voneinander (**Abb. 2a**).

In Bezug auf die Plasma SDMA-Spiegel innerhalb der Gruppen Überlebende vs. Nicht-Überlebende ist für beide Kollektive kein signifikanter Anstieg der Plasma SDMA-Werte über den Verlauf von 7 Tagen zu verzeichnen ($p=0.21$ bzw. $p=0.33$) (**Abb. 2b**). Graphisch lässt sich bei Überlebenden eine Tendenz zu sinkenden SDMA-Spiegeln vermuten, diese erreicht jedoch keine statistische Signifikanz ($p=0.21$). Anders jedoch innerhalb der Gruppe der Nicht-Überlebenden, in der sich signifikant höhere Plasma SDMA-Spiegel am ersten Tag der Messung ($p=0.006$) und nach 7 Tagen nachweisen lassen (**Abb 2a**).

Abbildung 2

ADMA- und SDMA-Plasmakonzentrationen bezogen auf die 28-Tage Mortalität



Mittelwerte der ADMA-Plasmaspiegel (a) und der SDMA Plasmaspiegel (b) wurden aufgeteilt nach Überlebenden und Nicht-Überlebenden, gemessen an Tag 1 (Baseline) und Tag 7. Plasma ADMA- und SDMA-Spiegel sind in µmol/L angegeben. ADMA: Asymmetrisches Dimethylarginin, SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin, SE: Standard Error

Untersucht man den Zusammenhang zwischen ADMA- bzw. SDMA-Spiegel und 28-Tage Mortalität, so zeigt sich, dass sowohl ADMA ($p=0.001$, HR 2.3, 95%CI [1.4 ; 3.7]) als auch SDMA ($p=0.001$, HR 1.9, 95%CI [1.3 ; 2.8]) signifikant mit der 28-Tage Mortalität assoziiert sind. Dieser Effekt bleibt auch bei Adjustierung für Alter und Geschlecht erhalten. (ADMA: $p=0.001$, HR 2.3, 95%CI [1.4 ; 3.6]), SDMA: ($p=0.001$, HR 2.0, 95%CI [1.4 ; 2.9]). In einem adjustierten Modell mit beiden Prädiktoren zeigt sich allerdings, dass nur SDMA ($p=0.029$) als signifikanter Prädiktor für die 28-Tage Mortalität erhalten bleibt, während ADMA kein unabhängig signifikanter Prädiktor ist ($p=0.680$).

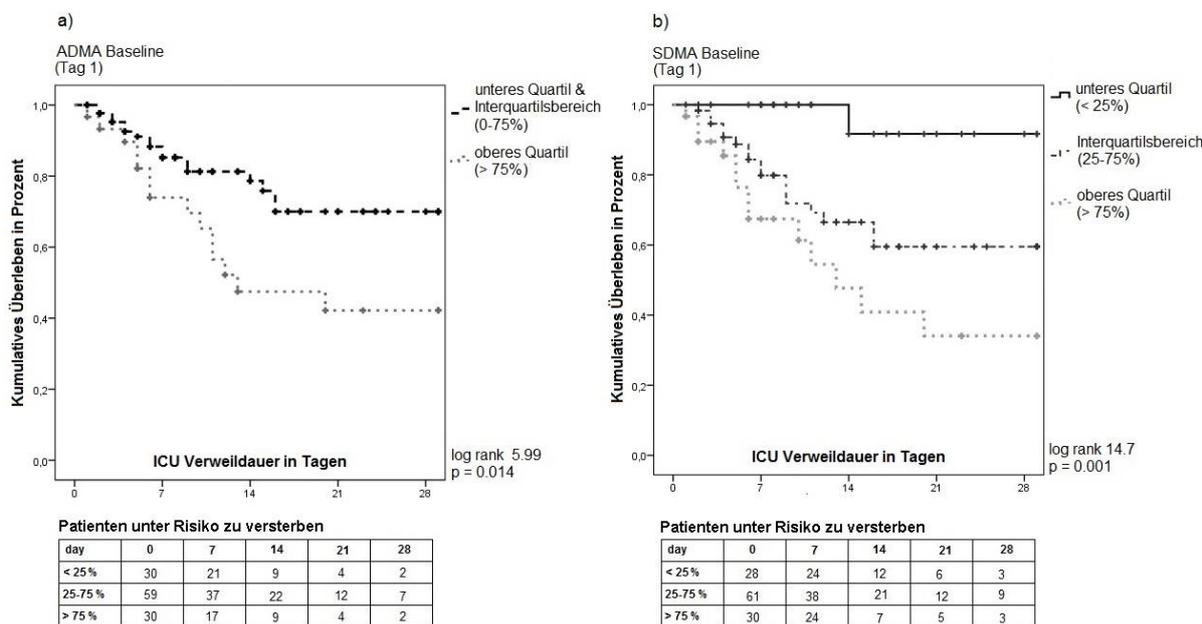
3.6.3. Überlebenszeitanalysen nach dem Kaplan-Meier Verfahren

Um den Zusammenhang zwischen den an Tag 1 gemessenen Plasma ADMA- und SDMA-Spiegeln zur 28- Tage-Mortalität zu untersuchen, wurden zunächst die in Quartilen eingeteilten Gruppen verglichen. Nach Einteilung in Quartile zeichnete sich ab, dass die sinnvollste Strukturierung für ADMA darin bestand, Patienten mit stark erhöhten ADMA- Ausgangswerten ($> 0.97 \mu\text{mol/L}$ [75. Perzentil]) gegen die Patienten mit niedrigem bis normalem ADMA-Spiegeln zu vergleichen ($<0.97 \mu\text{mol/L}$). Wir konnten zeigen, dass die Patienten mit initial stark erhöhten ADMA-Werten eine signifikant höhere 28-Tage Mortalität aufweisen ($p=0.019$, HR 2.3, 95%CI [1.2; 4.8]). In Abbildung 3 (**Abb.3a**) sind die entsprechenden Kaplan Meier Kurven dargestellt.

Für SDMA hat sich herausgestellt dass es sinnvoll ist die in Quartile eingeteilten Gruppen mit erhöhten, mittleren und niedrigen SDMA-Plasmaspiegeln miteinander zu vergleichen. Es kann eine signifikant unterschiedliche 28-Tage Mortalität für die Kollektive mit initial stark erhöhtem SDMA-Spiegel ($>1.33 \mu\text{mol/L}$ [75. Perzentile]), sehr niedrigem SDMA-Spiegel ($<0.64 \mu\text{mol/L}$ [25. Perzentile]) und SDMA im mittleren Bereich ($0.6464 \mu\text{mol/L}$ bis $1.3364 \mu\text{mol/L}$) nachgewiesen werden ($p=0.009$). Dabei gilt, dass die 28-Tage Mortalität mit den SDMA-Plasmakonzentrationen ansteigt (hoch vs. normal: $p=0.005$, HR 18.1, 95%CI [2.4; 138.7]; normal vs. niedrig: $p=0.031$, HR 9.2, 95%CI [1.2; 69.1]). In Abbildung 3 (**Abb. 3b**) sind die entsprechenden Kaplan Meier Kurven dargestellt.

Abbildung 3

28-Tage-Überlebensraten für ADMA- und SDMA-Konzentrationen an Tag 1



28 Tage Kaplan-Meyer Überlebensfunktion für an Tag 1 gemessenes Plasma ADMA und SDMA. Mittelwerte der ADMA Plasmaspiegel (a) und der SDMA Plasmaspiegel (b) bezogen auf die Messungen an Tag 1 wurden zwischen 28 Tage Überlebenden und Nicht-Überlebenden aufgeteilt. In der Abbildung (a) wurden jeweils die ADMA Plasma Werte des unteren Quartils und der Interquartilsbereich (0-75%) zusammengefasst und für 28 Tage graphisch dargestellt. In der Abbildung (b) wurden die an Tag 1 bestimmten SDMA Werte jeweils im unteren Quartil (< 25%), Interquartilsbereich (25%-75%) und oberem Quartil (> 75%) graphisch für 28 Tage dargestellt. ADMA: Asymmetrisches Dimethylarginin, SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin, log rank: Logranktest.

3.7. Risikobewertung mittels Cox-Regressions Modell

Zusätzlich wurde eine genauere Analyse des Zusammenhanges zwischen ADMA/SDMA und 28-Tage Mortalität mittels adjustierter Cox-Regressions-Modelle durchgeführt.

In der Adjustierung für Alter und Geschlecht waren sowohl der absolute an Tag 1 bestimmte ADMA-Wert (HR 2.3, 95% CI [1.4; 3.6], p=0.001), als auch der absolute an Tag 1 erhobene SDMA-Wert (HR 2.0, 95% CI[1.4; 2.9], p<0.001) signifikant mit der 28-Tage Mortalität assoziiert. Für die relevanten kategorialen Variablen blieben

die Zusammenhänge ebenfalls unter der Adjustierung bestehen: ADMA ($p=0.021$, HR 2.3, 95%CI [1.1; 4.7]) und SDMA ($p=0.034$; hoch vs. normal: $p=0.012$, HR 14.6, 95%CI [1.8; 118.3], normal vs. niedrig: $p=0.035$, HR 9.3, 95%CI [1.2; 73.2]).

In einem adjustierten Modell mit beiden Prädiktoren zeigte sich allerdings, dass nur SDMA ($p=0.029$) als signifikanter Prädiktor für die 28-Tage Mortalität erhalten blieb, während ADMA kein unabhängig signifikanter Prädiktor war ($p=0.680$).

Es ließ sich feststellen, dass im Gegensatz zu den an Tag 1 gemessenen ADMA-Werten sowohl der an Tag 1 errechnete SOFA-Score ($p=0.283$) als auch der an Tag 1 bestimmte SAPS II-Score ($p=0.891$) im für Alter, Geschlecht und glomeruläre Filtrationsrate (GFR) adjustierten Cox-Regressionsmodell nicht signifikant mit der 28-Tage Mortalität assoziiert waren. Darüber hinaus blieben die an Tag 1 bestimmten ADMA-Werte auch signifikante Prädiktoren für die 28-Tage Mortalität, wenn für die Erkrankungsschwere in Form von SOFA-Score (ADMA: $p=0.003$) oder SAPS II-Score (ADMA: $p=0.013$) adjustiert wurde.

Für PCT konnten wir keine signifikante Assoziation (adjustiert für Alter, Geschlecht und GFR) mit dem 28-Tage Überleben nachweisen ($p=0.060$). Im gemeinsamen adjustierten Modell mit PCT kann sowohl für ADMA ($p=0.006$) als auch für SDMA ($p=0.044$) eine zusätzliche signifikante Assoziation nachgewiesen werden.

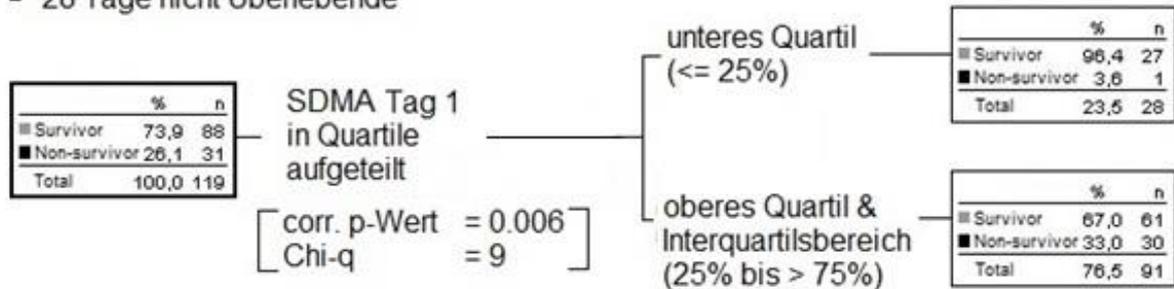
3.8. Differenzierung von Risikokollektiven mittels Entscheidungsbaum

Für die Identifikation mortalitätsbedingter Hoch- oder Niedrigrisikokollektive durch einen Entscheidungsbaum ergibt die Kombination von ADMA und SDMA-Klasse die optimale Aufteilung (**Abb. 4**). Dagegen werden SAPS II Score und SOFA Score nicht einbezogen. Als Niedrigrisikokollektiv (3.6% verstorben) wird die Gruppe mit niedrigen SDMA-Werten identifiziert. Ein hohes Mortalitätsrisiko innerhalb der ersten 28 Tage hat dagegen die Gruppe mit sowohl stark erhöhten ADMA-Werten als auch stark erhöhten SDMA-Werten (61.1% verstorben).

Abbildung 4

Entscheidungsbaum bezogen auf die an Tag 1 bestimmten SDMA-Werte

- 28 Tage Überlebende
- 28 Tage nicht Überlebende



Entscheidungsbaum mit Präsentation von an Tag 1 gemessenem Plasma SDMA aufgeteilt in oberes Quartil und Zusammenfassung des Interquartilsbereichs und des unteren Quartils in Beziehung zur 28-Tage Mortalität zur Bestimmung von Niedrigrisikokollektiven. SDMA: Symmetrisches Dimethylarginin, Chi-q: Chi-Quadrat-Test, corr.: Corresponding

4. Diskussion

4.1. Einführung

Dimethylarginine als wichtige Faktoren im Zusammenspiel des menschlichen Organismus bei der Abwehr systemischer Infektionskrankheiten zu betrachten, ist in vorangegangenen Arbeiten thematisiert worden. In ihnen konnten der Nachweis erbracht werden, dass sie mit der NO Synthese interferieren und damit auf Perfusion, Gewebemetabolismus und Immunkompetenz Einfluss nehmen (Boger et al., 1998b). In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Dimethylargininen eine wichtige Rolle in der Vorhersage der 28-Tage Mortalität in der schweren Sepsis und im septischen Schock zukommt. Während ADMA an Tag 1 als stetiger Wert in der hier getätigten Cox-Regressionsanalyse den klassischen Scores wie SOFA und SAPS II überlegen zu sein scheint, ist SDMA möglicherweise ein noch sensiblerer Prädiktor der 28-Tage Mortalität, weil es sowohl als stetiger Wert, wie auch nach der Aufteilung in Quartile, seine Bedeutung für die Prognose bewahrt und in einem PCT adjustierten Cox-Regressionsmodell, wie auch innerhalb eines Entscheidungsbaumes, mortalitätsbezogene Hochrisiko- wie Niedrigrisikokollektive zu unterscheiden vermag.

4.2. Bedeutung der ADMA-Plasmakonzentration für die Organdysfunktion und als Mortalitätsprädiktor

Die besondere Eigenschaft von ADMA als Hemmstoff der NO-Synthase zu fungieren, hat in den vergangenen Jahren zu kontroversen Diskussionen geführt, welche Rolle NO und ADMA in Bezug auf systemische Inflammation zugeschrieben werden kann (Lopez et al., 2004, Zoccali et al., 2007). Neuere Arbeiten lassen vermuten, dass ADMA nicht unbedingt als sepsisspezifisches Agens betrachtet werden kann (Koch et al., 2013b). Oftmals wird ein hoher ADMA-Spiegel in Zusammenhang mit Begleiterkrankungen wie Hypertonie (Matsuoka et al., 1997, Surdacki et al., 1999), Herz- (Usui et al., 1998) und Niereninsuffizienz (Boger and Zoccali, 2003) genannt. Die Einflüsse von Inflammation und Begleiterkrankungen auf die Höhe des Plasma ADMA lassen sich daher schwerlich isoliert betrachten.

Unter Stimulation inflammatorischer Cytokine wird die induzierbare Form der NO-Synthase (iNOS) hochreguliert (Ueda et al., 2003). Möglicherweise überwiegen in dieser frühen Phase die protektiven Eigenschaften des NO zur Infektabwehr. Dies könnte durch die Beobachtungen von Lopez gestützt werden, der als Resultat einer exogenen Hemmung der NOS in einer frühen Phase der Sepsis eine erhöhte Mortalität gezeigt hatte (Lopez et al. 2004). Im Progress der Erkrankung kommen dann scheinbar vermehrt ungünstige Charakteristika des NO zum Tragen. Unter anderem verminderter Vasotonus, zunehmende Katecholaminresistenz (Boyle et al., 2000) und Gewebeschädigung durch superoxidvermittelte Protein-Nitrosylierung (Cuzzocrea et al., 2006).

Um die Funktion der in der Sepsis beeinträchtigten Organsysteme im Einzelnen zu untersuchen, wurden repräsentativ für die Synthese- und Entgiftungsleistung der Leber die INR und das Bilirubin betrachtet, die zu Beginn und nach 7 Tagen signifikant mit dem ADMA-Plasmaspiegel in Beziehung stehen. In der Leber konnte die höchste Dichte des ADMA inaktivierendem Enzym DDAH nachgewiesen werden (Boger et al., 1998b), (Bode-Boger et al., 1996). Ihm scheint zu Beginn und im Verlauf der Erkrankung daher eine Schlüsselrolle bei der Elimination von ADMA zuzukommen. Auch unsere Ergebnisse zeigen, dass eine zunehmende Leberdysfunktion mit einer Erhöhung des ADMA-Spiegels einhergeht.

Bezogen auf die Nierenfunktion zeigt ADMA zum Zeitpunkt der Erstmessung an Tag 1 keine Korrelation. In einem Rattenmodell konnte nachgewiesen werden, dass unter Endotoxämie ADMA-Spiegel sinken, ohne dass es vermehrt renal ausgeschieden wird (Nijveldt et al., 2003a). Möglicherweise spielt die Niere zur Regulation des Plasma ADMA-Spiegels in der frühen Phase der schweren Sepsis offenbar keine wesentliche Rolle. Bei fortbestehender Sepsis und septischem Schock ist in unserem Patientenkollektiv am siebten Tag eine Korrelation zu den Retentionsparametern zu erkennen. Somit vermuten wir, dass erst im protrahierten Krankheitsverlauf die Nierenfunktion für die Elimination von ADMA an Bedeutung gewinnt.

Oftmals ist es bei dem Versuch, ADMA mit Markern systemischer Inflammation in Beziehung zu setzen, zu divergierenden Ergebnissen gekommen. ADMA ist zum Teil am ersten Untersuchungstag mit IL 6 (Nijveldt et al., 2003b), oder sogar invers mit IL 6 und CRP verbunden (Iapichino et al., 2010). Innerhalb unserer Ergebnisse ist ADMA am ersten Messtag weder mit CRP, IL 6 noch PCT in Verbindung zu

bringen. Eine Arbeit von Zoccali stützt dieses Ergebnis. Dort wird berichtet, dass ein Anstieg von IL 6 und PCT im Mittel keinen Unterschied zu den ADMA-Werten zwischen septischen Probanden und der gesunden Kontrollgruppe ergeben hat (Zoccali et al., 2007), bzw. kein Unterschied zwischen Überlebenden und Nicht-Überlebenden zu finden war (O'Dwyer et al., 2006). ADMA scheint in der septischen Frühphase keinen wesentlichen Anteil an der zytokinvermittelten Inflammation zu haben. Erst im weiteren Verlauf der schweren Sepsis bzw. der anhalten Organdysfunktion könnte ADMA an Bedeutung gewinnen. In der vorliegenden Studie konnten wir nachweisen, dass es am siebten Tag mit den proinflammatorischen Zytokin IL 6 korreliert ist, zusätzlich auch mit PCT, allerdings nicht mit dem CRP.

Innerhalb unserer Erhebung und der damit verbundenen Betrachtung der Dynamik von ADMA über den zeitlichen Verlauf konnte herausgearbeitet werden, dass ADMA während der Intensivtherapie sowohl bei Überlebenden wie Nicht-Überlebenden nahezu immer ansteigt (**Abb. 2a**). Hohe Plasma ADMA-Werte im Verlauf der intensivmedizinischen Behandlung sind demnach kein verlässlicher Parameter für die Intensivmortalität. An Tag 1 gemessenes ADMA ist zwar bei Nicht-Überlebenden erhöht und in unserer Auswertung den in der Intensivmedizin geläufigen Scores SAPS II und SOFA in der Vorhersage der 28-Tage Mortalität überlegen. Die Höhe des initialen Plasma ADMA-Spiegels kann aufgrund des oben genannten stetigen Anstiegs daher dennoch nicht zur verlässlichen Voraussage der Sepsismortalität herangezogen werden.

4.3. Betrachtung der SDMA-Plasmakonzentrationen im Rahmen von Organdysfunktion und Mortalitätsprädiktion

Von SDMA ist bekannt, dass es im Gegensatz zu ADMA nicht über die Fähigkeit verfügt, als Hemmstoff der NO Synthase zu wirken (Nijveldt et al., 2003c). Auch wenn die Funktion dieses Moleküls in der Pathogenese der Sepsis gegenwärtig nicht zufriedenstellend geklärt ist, verdichten sich aus vorangegangenen Arbeiten die Hinweise, dass ungünstige Effekte auch in der septischen Inflammation zum Tragen kommen (Nijveldt et al., 2003b, Iapichino et al., 2010, Koch et al., 2013a).

Unsere Daten haben gezeigt, dass die SDMA-Werte an beiden Tagen eng mit den Nierenretentionsparametern in Beziehung stehen. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die renale Elimination der bislang einzig bekannte Ausscheidungsweg für Plasma SDMA darstellt. Da es auch kein Substrat der DDAH (Nijveldt et al., 2003c) ist und daher nicht in der Leber eliminiert wird, könnte dies die fehlende Korrelation zu den hepatischen Parametern am ersten Messtag erklären. Marker für Inflammation korrelieren in unserer Erhebung an Tag 1 nicht mit der Höhe des SDMA-Spiegels, erst bei der Zweitmessung an Tag 7 ist hier ein starker Zusammenhang für IL 6 und PCT, jedoch nicht zum CRP zu beobachten. Dies stützt die Annahme aus früheren Studien, dass SDMA ein spezifischerer Marker als ADMA für Sepsis und Inflammation zu sein scheint; dies jedoch erst bei protrahiertem Krankheitsverlauf (Koch et al., 2013a).

Auch in unserer Erhebung konnten wir SDMA als Prädiktor für letale septische Verläufe identifizieren. Betrachtungen der Erstmessung von SDMA und den Messungen nach sieben Tagen zeigen, dass die nach einer Woche bestimmten Werte einer starken Streuung unterliegen (**Abb. 1b**). Dies könnte darauf hindeuten, dass Patienten, die sich in der Remission der Inflammation befinden, möglicherweise sinkende Plasma SDMA-Spiegel aufweisen, während bei Patienten mit Krankheitsprogress die SDMA-Plasmakonzentrationen weiter ansteigen. Mögliche Belege dazu finden sich in der Betrachtung der Patientenkollektive. Hier weisen Nicht-Überlebende signifikant höhere SDMA- Spiegel als Überlebende auf (**Abb. 2b**). Innerhalb des Kollektivs der Nicht-Überlebenden konnte kein signifikanter Anstieg von Plasma-SDMA nach 7 Tagen gegenüber dem Wert an Tag 1 gezeigt werden. Dennoch scheint nach dem Zeitraum von einer Woche der Verlauf des SDMA-Spiegels, je nachdem ob steigend oder sinkend, einen Anhaltspunkt dafür zu liefern, ob ein Patient während oder 28 Tage nach Beginn der Intensivbehandlung versterben wird. Welchen Einfluss die Höhe des an Tag 1 bestimmten SDMA auf die 28-Tage Mortalität hat, konnten wir im Cox-Regressionsmodell herausarbeiten. Anders als bei ADMA zeigt sich SDMA sowohl als stetiger Wert und auch nach der Aufteilung in Quartile als signifikanter Mortalitätsprädiktor. Patienten, bei denen initial ein Plasma-SDMA-Spiegel im oberen Quartil ab $1,3 \mu\text{mol/l}$ bestimmt wurde, wiesen ein fast 20-fach höheres Risiko gegenüber den verbliebenen Quartilen auf. Genauso konnten wir zeigen, dass Patienten mit einem initial gemessenem SDMA im unteren Quartil bzw. unterhalb

von $0.7\mu\text{mol/l}$ ein niedriges Risiko aufwiesen, binnen 28 Tagen zu versterben (**Abb. 4**). Wir konnten veranschaulichen, dass SDMA nicht nur ein potenter Prädiktor ist, um Hochrisikopatienten zu identifizieren, sondern auch dazu geeignet ist, Niedrigrisikokollektive zu ermitteln. Auch ist es als stetiger Wert, wie auch nach Aufteilung in Quartile, dem SOFA und SAPS II in der Vorhersage der 28-Tage Mortalität überlegen.

Dies wird auch durch die Analysen gestützt, die ebenfalls mit Hilfe des adjustierten Cox-Regressionsmodells durchgeführt wurden. In diesem wurde für PCT adjustiert, wobei sich für PCT keine signifikante Assoziation zur 28-Tage Mortalität fand, während ADMA und SDMA als unabhängige Prädiktoren aus der Analyse hervorgingen. Um jedoch die Behauptung zu untermauern, dass ADMA und SDMA aussagekräftigere Prädiktoren gegenüber dem etablierten Marker PCT sind, bedarf es größerer Fallzahlen.

Gegenüber ADMA konnte für SDMA dargestellt werden, dass in einem adjustierten Cox-Regressionsmodell, in dem für beide Parameter adjustiert wurde, nur SDMA als unabhängiger Mortalitätsprädiktor aus der Berechnung hervorgeht. Aus diesem Grund kann vermutet werden, dass die Aussagekraft von SDMA bezogen auf die 28-Tage Mortalität nicht nur dem ADMA überlegen ist, sondern auch im Vergleich zum PCT gleichwertig oder höher sein könnte. Damit präsentiert sich in dieser Arbeit SDMA als der am besten geeignete Prognoseparameter in der Vorhersage der 28-Tage Mortalität in der schweren Sepsis und im septischen Schock.

5. Zusammenfassung

5.1. Deutschsprachige Fassung

In dieser Arbeit sind 120 Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock untersucht worden, ob Dimethylarginine als ein Prädiktor für die 28-Tage Mortalität geeignet sind, wie sich die Plasmaspiegel über den Verlauf von 7 Tagen entwickeln und in welcher Beziehung sie zu etablierten Scoringsystemen in der Intensivmedizin stehen.

Wir konnten zeigen, dass an Tag 1 bestimmtes Plasma SDMA nicht nur einen potenten Prädiktor darstellt, um Hochrisikopatienten im Hinblick auf die 28-Tage Mortalität zu identifizieren, sondern auch geeignet ist, Niedrigrisikokollektive zu detektieren, die eine hohe Wahrscheinlichkeit aufweisen eine schwere Sepsis bzw. einen septischen Schock binnen 28 Tagen zu überleben. Darüber hinaus ist es in unserer Analyse als kontinuierlicher Wert dem SOFA und SAPS II Score in der Vorhersage der 28-Tage Mortalität in der Patientengruppe mit schwerer Sepsis und septischem Schock überlegen (**Abb. 4**).

Abschliessend lässt sich für beide Dimethylarginine darstellen, dass ein Plasma ADMA-Spiegel im oberen Quartil, verbunden mit einem Plasma SDMA-Spiegel im oberen Quartil, mit einer hohen 28-Tage Mortalität vergesellschaftet sind, weshalb die Betrachtung beider Parameter zur Risikostratifizierung und der damit verbundenen Identifikation von Hochrisikopatienten in der schweren Sepsis und im septischen Schock sinnvoll erscheint.

Bezogen auf die neuen Betrachtungen der aktuellen Sepsisdefinitionen hat sich gezeigt, dass der Organdysfunktion eine noch größere Bedeutung eingeräumt werden muss. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass mindestens für SDMA eine Überlegenheit zum SOFA Score unterstellt werden könnte.

Daher schlagen wir vor, SDMA mit Werten oberhalb der 75th Perzentile in Algorithmen für Risikostratifizierung der 28-Tage Mortalität bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen Schock einfließen zu lassen. Aufgrund der verhältnismäßig geringen Anzahl an Studienteilnehmern konnten keine wesentlichen Aussagen zu Sensitivität und Spezifität getroffen werden. Wir empfehlen daher diesen Parameter, innerhalb von Erhebungen mit größeren Fallzahlen zu berücksichtigen, um detaillierter explorieren zu können, wie sensitiv und spezifisch SDMA in Verbindung mit Sepsis und Inflammation sein könnte.

5.2. Englischsprachige Fassung

In this work 120 patients with severe sepsis and septic shock have been studied whether dimethylarginine is a predictor of 28-day mortality, how plasma levels develop over the course of 7 days and how they relate to established scoring systems in Intensive Care Medicine.

We were able to show that on day 1 measured plasma SDMA is not only a potent predictor to identify high-risk patients in terms of 28-day mortality, but is also appropriate of detecting low-risk collectives that are highly likely to survive severe sepsis or a septic shock within 28 days.

In addition, in our analysis, SDMA as a continuous value shows to be superior to the SOFA and SAPS II score in predicting 28-day mortality in the patient group with severe sepsis and septic shock (Figure 4).

Finally, for both dimethylarginines we determined that a plasma upper quartile ADMA level, associated with a high quartile plasma SDMA level, is associated with a high 28-day mortality, which leads to consider both parameters for risk stratification and identification of high-risk patients in severe sepsis and in septic shock seems useful.

Based on the new considerations of current sepsis definitions, it is recommended to set the focus on the organ dysfunction.

In our work we were able to show that at least for SDMA a superiority to the SOFA score might be assumed. Therefore, we suggest using SDMA values above the 75th percentile in risk stratification algorithms for 28-day mortality in patients with severe sepsis and septic shock.

Due to the small number of study participants, no significant statements on sensitivity and specificity could be made. We therefore recommend this parameter to be included in trials with more patients in order to explore how sensitive and specific SDMA may be in connection with sepsis and inflammation.

6. Abkürzungsverzeichnis

ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
ADSeS	ADMA Sepsis Studie
CAT	Kationenaustauschtransporter
CI	Konfidenzintervall
COX	nach David Cox benannte Regressionsanalyse
CRP	C-reaktives Protein
DDAH	Dimethylaminohydrolase
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HR	Hazard Ratio
hCAT23B	Humaner Kationenaustauschtransporter 23 B
IBM	International Business Machines Corporation
ICM	Integrated Care Manager
ICU	Intensive Care Unit
IL 6	Interleukin 6
INR	International Normalized Ratio
LC/MS	Liquid-Chromatographie Massenspektrometrie
LDL	Low Density Lipoprotein
MRM	Multiple Reaction Monitoring
NO	Nitric Oxide
NOS	Nitric Oxide Synthase
NMMA	N-Monomethylarginin
PCR	Polymerase Chain Reaction
qSOFA	Quick Sequential Organ Failure Assessment Score
SAPS	Simplified Acute Physiology Score
SDMA	Symmetrisches Dimethylarginin
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment Score
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TIPS	Totally Integrated Pipetting System
PCT	Procalcitonin
ROC	Receiver-Operating-Characteristic

7. Literaturverzeichnis

- ANNANE, D., SEBILLE, V., CHARPENTIER, C., BOLLAERT, P. E., FRANCOIS, B., KORACH, J. M., CAPELLIER, G., COHEN, Y., AZOULAY, E., TROCHE, G., CHAUMET-RIFFAUD, P. & BELLISSANT, E. 2002. Effect of treatment with low doses of hydrocortisone and fludrocortisone on mortality in patients with septic shock. *JAMA*, 288, 862-71.
- BELLOMO, R., CHAPMAN, M., FINFER, S., HICKLING, K. & MYBURGH, J. 2000. Low-dose dopamine in patients with early renal dysfunction: a placebo-controlled randomised trial. Australian and New Zealand Intensive Care Society (ANZICS) Clinical Trials Group. *Lancet*, 356, 2139-43.
- BODE-BOGER, S. M., BOGER, R. H., KIENKE, S., JUNKER, W. & FROLICH, J. C. 1996. Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun*, 219, 598-603.
- BOGER, R. H. 2003a. Die Entdeckung eines neuen kardiovaskulären Risikofaktors. Hemmung der endothelialen NO-Synthase durch asymmetrisches Dimethylarginin. *Int. Prax.*
- BOGER, R. H. 2003b. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res*, 59, 824-33.
- BOGER, R. H. 2006. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med*, 38, 126-36.
- BOGER, R. H., BODE-BOGER, S. M. & FROLICH, J. C. 1996. The L-arginine-nitric oxide pathway: role in atherosclerosis and therapeutic implications. *Atherosclerosis*, 127, 1-11.
- BOGER, R. H., BODE-BOGER, S. M., KIENKE, S., STAN, A. C., NAFE, R. & FROLICH, J. C. 1998a. Dietary L-arginine decreases myointimal cell proliferation and vascular monocyte accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 136, 67-77.
- BOGER, R. H., BODE-BOGER, S. M., SZUBA, A., TSAO, P. S., CHAN, J. R., TANGPHAO, O., BLASCHKE, T. F. & COOKE, J. P. 1998b. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation*, 98, 1842-7.
- BOGER, R. H., BODE-BOGER, S. M., THIELE, W., JUNKER, W., ALEXANDER, K. & FROLICH, J. C. 1997. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*, 95, 2068-74.
- BOGER, R. H., BODE-BOGER, S. M., TSAO, P. S., LIN, P. S., CHAN, J. R. & COOKE, J. P. 2000a. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase

- regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol*, 36, 2287-95.
- BOGER, R. H., SYDOW, K., BORLAK, J., THUM, T., LENZEN, H., SCHUBERT, B., TSIKAS, D. & BODE-BOGER, S. M. 2000b. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res*, 87, 99-105.
- BOGER, R. H. & ZOCCALI, C. 2003. ADMA: a novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in patients with end-stage renal disease. *Atheroscler Suppl*, 4, 23-8.
- BONE, R. C., BALK, R. A., CERRA, F. B., DELLINGER, R. P., FEIN, A. M., KNAUS, W. A., SCHEIN, R. M. & SIBBALD, W. J. 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest*, 101, 1644-55.
- BONE, R. C., FISHER, C. J., JR., CLEMMER, T. P., SLOTMAN, G. J., METZ, C. A. & BALK, R. A. 1989. Sepsis syndrome: a valid clinical entity. Methylprednisolone Severe Sepsis Study Group. *Crit Care Med*, 17, 389-93.
- BOYLE, W. A., 3RD, PARVATHANENI, L. S., BOURLIER, V., SAUTER, C., LAUBACH, V. E. & COBB, J. P. 2000. iNOS gene expression modulates microvascular responsiveness in endotoxin-challenged mice. *Circ Res*, 87, E18-24.
- BRUNKHORST, F. M., ENGEL, C., BLOOS, F., MEIER-HELLMANN, A., RAGALLER, M., WEILER, N., MOERER, O., GRUENDLING, M., OPPERT, M., GROND, S., OLTHOFF, D., JASCHINSKI, U., JOHN, S., ROSSAINT, R., WELTE, T., SCHAEFER, M., KERN, P., KUHN, E., KIEHNTOPF, M., HARTOG, C., NATANSON, C., LOEFFLER, M. & REINHART, K. 2008. Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med*, 358, 125-39.
- BUDELMANN, G. 1969. [Hugo Schottmuller, 1867-1936. The problem of sepsis]. *Internist (Berl)*, 10, 92-101.
- CHAN, J. R., BOGER, R. H., BODE-BOGER, S. M., TANGPHAO, O., TSAO, P. S., BLASCHKE, T. F. & COOKE, J. P. 2000. Asymmetric dimethylarginine increases mononuclear cell adhesiveness in hypercholesterolemic humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20, 1040-6.
- CLOSS, E. I., BASHA, F. Z., HABERMEIER, A. & FORSTERMANN, U. 1997. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y+ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide*, 1, 65-73.
- CUZZOCREA, S., MAZZON, E., DI PAOLA, R., ESPOSITO, E., MACARTHUR, H., MATUSCHAK, G. M. & SALVEMINI, D. 2006. A role for nitric oxide-mediated peroxynitrite formation in a model of endotoxin-induced shock. *J Pharmacol Exp Ther*, 319, 73-81.

- ENGEL, C., BRUNKHORST, F. M., BONE, H. G., BRUNKHORST, R., GERLACH, H., GROND, S., GRUENDLING, M., HUHLE, G., JASCHINSKI, U., JOHN, S., MAYER, K., OPPERT, M., OLTHOFF, D., QUINTEL, M., RAGALLER, M., ROSSAINT, R., STUBER, F., WEILER, N., WELTE, T., BOGATSCH, H., HARTOG, C., LOEFFLER, M. & REINHART, K. 2007. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive Care Med*, 33, 606-18.
- FLEISCHMANN, C., THOMAS-RUEDDEL, D. O., HARTMANN, M., HARTOG, C. S., WELTE, T., HEUBLEIN, S., DENNLER, U. & REINHART, K. 2016. Hospital Incidence and Mortality Rates of Sepsis. *Dtsch Arztebl Int*, 113, 159-66.
- FURCHGOTT, R. F. & ZAWADZKI, J. V. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288, 373-6.
- IAPICHINO, G., UMBRELLO, M., ALBICINI, M., SPANU, P., BELLANI, G., POLLI, F., PAVLOVIC, R., CUGNO, M., FERMO, I. & PARONI, R. 2010. Time course of endogenous nitric oxide inhibitors in severe sepsis in humans. *Minerva Anesthesiol*, 76, 325-33.
- ITO, A., TSAO, P. S., ADIMOOLAM, S., KIMOTO, M., OGAWA, T. & COOKE, J. P. 1999. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*, 99, 3092-5.
- KAKIMOTO, Y. & AKAZAWA, S. 1970. Isolation and identification of N-G,N-G- and N-G,N'-G-dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *J Biol Chem*, 245, 5751-8.
- KOCH, A., WEISKIRCHEN, R., BRUENSING, J., DUCKERS, H., BUENDGENS, L., KUNZE, J., MATTHES, M., LUEDDE, T., TRAUTWEIN, C. & TACKE, F. 2013a. Regulation and prognostic relevance of symmetric dimethylarginine serum concentrations in critical illness and sepsis. *Mediators Inflamm*, 2013, 413826.
- KOCH, A., WEISKIRCHEN, R., KUNZE, J., DUCKERS, H., BRUENSING, J., BUENDGENS, L., MATTHES, M., LUEDDE, T., TRAUTWEIN, C. & TACKE, F. 2013b. Elevated asymmetric dimethylarginine levels predict short- and long-term mortality risk in critically ill patients. *J Crit Care*, 28, 947-53.
- KREYMANN, K. G., DE HEER, G., NIERHAUS, A. & KLUGE, S. 2007. Use of polyclonal immunoglobulins as adjunctive therapy for sepsis or septic shock. *Crit Care Med*, 35, 2677-85.
- KUMAR, A., ROBERTS, D., WOOD, K. E., LIGHT, B., PARRILLO, J. E., SHARMA, S., SUPPES, R., FEINSTEIN, D., ZANOTTI, S., TAIBERG, L., GURKA, D. & CHEANG, M. 2006. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*, 34, 1589-96.

- LAI, P. S. & THOMPSON, B. T. 2013. Why activated protein C was not successful in severe sepsis and septic shock: are we still tilting at windmills? *Curr Infect Dis Rep*, 15, 407-12.
- LEVY, M. M., FINK, M. P., MARSHALL, J. C., ABRAHAM, E., ANGUS, D., COOK, D., COHEN, J., OPAL, S. M., VINCENT, J. L. & RAMSAY, G. 2003. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 31, 1250-6.
- LOPEZ, A., LORENTE, J. A., STEINGRUB, J., BAKKER, J., MCLUCKIE, A., WILLATTS, S., BROCKWAY, M., ANZUETO, A., HOLZAPFEL, L., BREEN, D., SILVERMAN, M. S., TAKALA, J., DONALDSON, J., ARNESON, C., GROVE, G., GROSSMAN, S. & GROVER, R. 2004. Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock. *Crit Care Med*, 32, 21-30.
- MACALLISTER, R. J., PARRY, H., KIMOTO, M., OGAWA, T., RUSSELL, R. J., HODSON, H., WHITLEY, G. S. & VALLANCE, P. 1996. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol*, 119, 1533-40.
- MATSUOKA, H., ITOH, S., KIMOTO, M., KOHNO, K., TAMAI, O., WADA, Y., YASUKAWA, H., IWAMI, G., OKUDA, S. & IMAIZUMI, T. 1997. Asymmetrical dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in experimental hypertension. *Hypertension*, 29, 242-7.
- NIJVELDT, R. J., SIROEN, M. P., TEERLINK, T. & VAN LEEUWEN, P. A. 2004. Elimination of asymmetric dimethylarginine by the kidney and the liver: a link to the development of multiple organ failure? *J Nutr*, 134, 2848S-2852S; discussion 2853S.
- NIJVELDT, R. J., TEERLINK, T., SIROEN, M. P., VAN LAMBALGEN, A. A., RAUWERDA, J. A. & VAN LEEUWEN, P. A. 2003a. The liver is an important organ in the metabolism of asymmetrical dimethylarginine (ADMA). *Clin Nutr*, 22, 17-22.
- NIJVELDT, R. J., TEERLINK, T., VAN DER HOVEN, B., SIROEN, M. P., KUIK, D. J., RAUWERDA, J. A. & VAN LEEUWEN, P. A. 2003b. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr*, 22, 23-30.
- NIJVELDT, R. J., TEERLINK, T., VAN GULDENER, C., PRINS, H. A., VAN LAMBALGEN, A. A., STEHOUWER, C. D., RAUWERDA, J. A. & VAN LEEUWEN, P. A. 2003c. Handling of asymmetrical dimethylarginine and symmetrical dimethylarginine by the rat kidney under basal conditions and during endotoxaemia. *Nephrol Dial Transplant*, 18, 2542-50.
- O'DWYER, M. J., DEMPSEY, F., CROWLEY, V., KELLEHER, D. P., MCMANUS, R. & RYAN, T. 2006. Septic shock is correlated with asymmetrical dimethyl arginine levels, which may be influenced by a polymorphism in the

- dimethylarginine dimethylaminohydrolase II gene: a prospective observational study. *Crit Care*, 10, R139.
- OGAWA, T., KIMOTO, M. & SASAOKA, K. 1987. Occurrence of a new enzyme catalyzing the direct conversion of NG,NG-dimethyl-L-arginine to L-citrulline in rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 148, 671-7.
- PERNER, A., HAASE, N., GUTTORMSEN, A. B., TENHUNEN, J., KLEMENZSON, G., ANEMAN, A., MADSEN, K. R., MOLLER, M. H., ELKJAER, J. M., POULSEN, L. M., BENDTSEN, A., WINDING, R., STEENSEN, M., BEREZOWICZ, P., SOE-JENSEN, P., BESTLE, M., STRAND, K., WIIS, J., WHITE, J. O., THORNBERG, K. J., QUIST, L., NIELSEN, J., ANDERSEN, L. H., HOLST, L. B., THORMAR, K., KJAELDGAARD, A. L., FABRITIUS, M. L., MONDRUP, F., POTT, F. C., MOLLER, T. P., WINKEL, P. & WETTERSLEV, J. 2012. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N Engl J Med*, 367, 124-34.
- RAWAL, N., RAJPUROHIT, R., LISCHWE, M. A., WILLIAMS, K. R., PAIK, W. K. & KIM, S. 1995. Structural specificity of substrate for S-adenosylmethionine:protein arginine N-methyltransferases. *Biochim Biophys Acta*, 1248, 11-8.
- SCHREIBER, J., NIERHAUS, A., BRAUNE, S. A., DE HEER, G. & KLUGE, S. 2013. Comparison of three different commercial PCR assays for the detection of pathogens in critically ill sepsis patients. *Med Klin Intensivmed Notfmed*, 108, 311-8.
- SCHWEDHELM, E., MAAS, R., TAN-ANDRESEN, J., SCHULZE, F., RIEDERER, U. & BOGER, R. H. 2007. High-throughput liquid chromatographic-tandem mass spectrometric determination of arginine and dimethylated arginine derivatives in human and mouse plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 851, 211-9.
- SEBALD, M. & HAUSER, D. 1995. Pasteur, oxygen and the anaerobes revisited. *Anaerobe*, 1, 11-6.
- SEYMOUR, C. W., LIU, V. X., IWASHYNA, T. J., BRUNKHORST, F. M., REA, T. D., SCHERAG, A., RUBENFELD, G., KAHN, J. M., SHANKAR-HARI, M., SINGER, M., DEUTSCHMAN, C. S., ESCOBAR, G. J. & ANGUS, D. C. 2016. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315, 762-74.
- SINGER, M., DEUTSCHMAN, C. S., SEYMOUR, C. W., SHANKAR-HARI, M., ANNANE, D., BAUER, M., BELLOMO, R., BERNARD, G. R., CHICHE, J. D., COOPERSMITH, C. M., HOTCHKISS, R. S., LEVY, M. M., MARSHALL, J. C., MARTIN, G. S., OPAL, S. M., RUBENFELD, G. D., VAN DER POLL, T., VINCENT, J. L. & ANGUS, D. C. 2016. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*, 315, 801-10.
- STUHLINGER, M. C., TSAO, P. S., HER, J. H., KIMOTO, M., BALINT, R. F. & COOKE, J. P. 2001. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 104, 2569-75.

- SURDACKI, A., NOWICKI, M., SANDMANN, J., TSIKAS, D., BOEGER, R. H., BODE-BOEGER, S. M., KRUSZELNICKA-KWIATKOWSKA, O., KOKOT, F., DUBIEL, J. S. & FROELICH, J. C. 1999. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma levels of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*, 33, 652-8.
- TEERLINK, T. 2005. ADMA metabolism and clearance. *Vasc Med*, 10 Suppl 1, S73-81.
- UEDA, S., KATO, S., MATSUOKA, H., KIMOTO, M., OKUDA, S., MORIMATSU, M. & IMAIZUMI, T. 2003. Regulation of cytokine-induced nitric oxide synthesis by asymmetric dimethylarginine: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circ Res*, 92, 226-33.
- USUI, M., MATSUOKA, H., MIYAZAKI, H., UEDA, S., OKUDA, S. & IMAIZUMI, T. 1998. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci*, 62, 2425-30.
- VALKONEN, V. P., PAIVA, H., SALONEN, J. T., LAKKA, T. A., LEHTIMAKI, T., LAAKSO, J. & LAAKSONEN, R. 2001. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*, 358, 2127-8.
- VALLANCE, P., LEONE, A., CALVER, A., COLLIER, J. & MONCADA, S. 1992. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 339, 572-5.
- VAN DEN BERGHE, G., WILMER, A., MILANTS, I., WOUTERS, P. J., BOUCKAERT, B., BRUYNINCKX, F., BOUILLON, R. & SCHETZ, M. 2006. Intensive insulin therapy in mixed medical/surgical intensive care units: benefit versus harm. *Diabetes*, 55, 3151-9.
- VASQUEZ-VIVAR, J., KALYANARAMAN, B., MARTASEK, P., HOGG, N., MASTERS, B. S., KAROUI, H., TORDO, P. & PRITCHARD, K. A., JR. 1998. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 9220-5.
- VINCENT, J. L., MORENO, R., TAKALA, J., WILLATTS, S., DE MENDONCA, A., BRUINING, H., REINHART, C. K., SUTER, P. M. & THIJS, L. G. 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, 707-10.
- WIENER, R. S., WIENER, D. C. & LARSON, R. J. 2008. Benefits and risks of tight glucose control in critically ill adults: a meta-analysis. *JAMA*, 300, 933-44.
- ZOCCALI, C., BENEDETTO, F. A., MAAS, R., MALLAMACI, F., TRIPEPI, G., MALATINO, L. S. & BOGER, R. 2002. Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 13, 490-6.

ZOCCALI, C., MAAS, R., CUTRUPI, S., PIZZINI, P., FINOCCHIARO, P., CAMBARERI, F., PANUCCIO, V., MARTORANO, C., SCHULZE, F., ENIA, G., TRIPEPI, G. & BOGER, R. 2007. Asymmetric dimethyl-arginine (ADMA) response to inflammation in acute infections. *Nephrol Dial Transplant*, 22, 801-6.

8. Anhang

8.1. Dokumentationsbogen Studienteilnehmer

Patientenerhebung

AMDA-Sepsis Studie (ADSeS)

Stammdaten des Patienten										Tag	1
Nr	Fall-Nr	Initialen	interne Codierung	Geburtsdatum	Alter	Geschlecht	Station	KH Aufnahme	ICU Aufnahme		

Diagnose											
ICU Zuweisungsgrund	Erstbefund			Vorerkrankungen							
	Hauptdiagnose	Nebendiagnose 1	Nebendiagnose 2	Nebendiagnose 3	Nebendiagnose 4	Nebendiagnose 5					
Sepsis-klassifizierung	Sepsisherd	Erregerspektrum								SAPS II	SOFA
		Bakterium	Gram								

Parameter													
Messdatum	Messzeit	ZNS				Vitalwerte							
		GC Score (vor Sed.)	GC Score	HF	Syst. Blutdruck ¹⁾	arter. Mitteldruck ²⁾	ZVD ¹⁾	Temp. ²⁾	pH	pO ₂ ¹⁾	pCO ₂ ¹⁾		
Blutgase				Blutbild				Gerinnung					
SaO ₂ (%)	HCO ₃ ³⁾	Serum HCO ₃ ³⁾	Base Ex ³⁾	Lactat ³⁾	Leukozyt ⁴⁾	Bilirubin ⁵⁾	Hkt. (%)	Thr. ⁴⁾	Quick (s)	INR	PTT (sec)	¹⁾ in mm Hg	⁴⁾ in Mrd./l
												²⁾ in °C	⁵⁾ in mg/dl
												³⁾ in mmol/l	⁶⁾ in U/l
Marker				Nierenfunktion				Admaspiegel					
CRP	PCT (u/l)	CK ⁶⁾	CK-mb ⁶⁾	LDH ⁶⁾	IL-6	Kreatinin ⁵⁾	Harnstoff ⁵⁾	Ausscheidung (ml/d)	Na ⁺ ³⁾	K ⁺ ³⁾	Serum ADMA (μmol/l)		

Molekularbiologie		
SNP1	SNP2	SNP3

ICU-Therapie						
Beatmung	FiO ₂ ⁷⁾	Dialyse	Katecholamine			⁷⁾ in kPa
			Adrenalin	Noradrenalin	Dobutamin	

Verlauf		
	Datum	
KH Aufnahme		KH Verweild. (Entlassung)
ICU Aufnahme		ICU Verweild. (Verlegung)
Verlegung		ICU Verweild. (Entlassung)
Entlassung		Mortalität (KH-Aufn.)
Verstorben		Mortalität (ICU-Aufn.)

8.2. Scoringdokumentation SAPS II und SOFA

SAPS II-Score (Simplified Acute Physiology Score) Subject: _____

Variable	Punkte	0	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13	Pkt.
Herzfrequenz*	1/min	70-110		40-59		120-159						≥160			540
Temperatur max	°C	<39,0			≥39,0										
Syst. Blutdruck*	mmHg	100-199		≥200			70-99							<70	
Leukozyten*	10 ⁹ /mm ³	1.0-20			≥20									<1.0	
Bilirubin max	mg/dl	≤4.0				4.0-55.0				>5.0					
Kalium*	mmol/l	3.0-5.0			≥5.0 <3.0										
Natrium*	mmol/l	125-144	≥145				<125								
Harnstoff max	mg/dl	<60						60-<180			≥190				
Bicarbonat min	mmol/l	≥20			15-<20			<15							
pO ₂ /F _i O ₂ **	mmHg							≥200		100-<200		<100			
Urinausfuhr	ml	≥1.0				0.5- <1.0						<0.5			

* Es ist der Wert zu dokumentieren, der die höchste Punktzahl für die Scoreberechnung ergibt. ** Erhebung nur im Falle der maschinellen Beatmung
 Wurde ein Laborwert nicht bestimmt, gilt dieser als Normalwert und wird mit 0 Punkten bewertet

Variable	Punkte	0	7	12	15	16	18	Pkt.
Alter des Patienten		<40	40-59	60-69	70-74	75-79	≥ 80	

Variable	Punkte	9	10	17	Pkt.
Chronische Leiden*		Metastasierende Neoplasie	Hämatologische Neoplasie	AIDS**	

* Bei chronischen Leiden darf nur das mit der höchsten Punktzahl berechnet werden.

** HIV-positiver Patient mit AIDS-Symptomatik (muss als Haupt- oder Nebendiagnose codiert sein)

Variable	Punkte	0	5	8	Pkt.
Aufnahmestatus		Geplant chirurgisch (> 24h)	Medizinisch (≥ 1 Woche ohne OP)	Ungeplant chirurgisch (< 24h)	

Gesamtpunktzahl:

Sequential Organ Failure Assessment score (SOFA)

Organ	Parameter		Punkte			
			1	2	3	4
Lunge	PaO ₂ / FiO ₂	mmHg	< 400	< 300	< 200 mit Beatmung	< 100 mit Beatmung
Niere	Kreatinin oder Ausfuhrmenge	mg/dL ml/Tag	1,2-1,9 -	2,0-3,4 -	3,5-4,9 <500	≥ 5,0 <200
Leber	Bilirubin	mg/dL	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	≥ 12,0
Herz / Kreislauf	Blutdruck und Katecholamine	mmHg	MAP < 70	Katechol. niedrig *	Katechol. mittel *	Katechol. hoch *
Blut	Thrombozyten	1000/mm ³	< 150	< 100	< 50	< 20
ZNS	Glasgow Coma Scale		14-13	12-10	9-6	< 6

* Katecholamindosis
 niedrig = Dopamin ≤5 oder Dobutamin (jede Dosis) für mind. 1 Stunde
 mittel = Dopamin > 5 oder Adrenalin / Noradrenalin ≤0,1 µg/kg*min
 hoch = Dopamin > 15 oder Adrenalin / Noradrenalin >0,1 µg/kg*min

8.3. Einwilligungserklärungen

8.3.1. Für Angehörige nicht-einwilligungsfähiger Patienten



Universitätssklinikum
Hamburg-Eppendorf

Klinik für Intensivmedizin
Dr. Stefan Kluge
Chefarzt (Intern)

Zentrum für Anästhesiologie
und Intensivmedizin

Mathienstraße 52
20248 Hamburg
Telefon: 040 7740-57010
Telefax: 040 7740-57020
eMail: klog@iui.uni-hamburg.de
www.iui.uni-hamburg.de

UNIVERSITÄT HAMBURG
Klinik für Intensivmedizin
Mathienstraße 52
20248 Hamburg

Information / Einwilligung für Angehörige, Bevollmächtigte und Betreuer zur klinischen Studie ADSES

Untersuchung von ADMA (Asymmetrischem-Dimethylarginin)-Serumspiegeln und DDAH II (Dimethylaminhydrilase) -Polymorphismen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock als Prognoseparameter

Sponsor / Leiter der klinischen Prüfung:
PD Dr. med. Stefan Kluge
Direktor der Klinik für Intensivmedizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Mathienstr. 52
20248 Hamburg

Sehr geehrte(r) Angehörige,

der Arzt, das von Ihnen betreuten Patienten stellt Ihnen heute eine klinische Studie vor, mit deren Ergebnissen wir Patienten in der frühen Phase einer schweren Sepsis oder in eines septischen Schocks früher erkennen und damit auch effektiver therapieren wollen. Wir möchten Sie um Ihre Einwilligung zur Teilnahme ihres Angehörigen an dieser Studie bitten, sofern diese dem mutmaßlichen Willen des Patienten entspricht. Sie erhalten im Folgenden Informationen zum Ablauf der klinischen Studie. Da Ihre Angehöriger z.Zt. nicht selbst einwilligungsfähig ist, werden wir – sofern keine gesetzliche Betreuung oder Vollmacht vorliegt – zunächstmöglichst eine gesetzliche Betreuung für die Gesundheitsfürsorge und die Aufenthaltsbestimmung beim zuständigen Amtsgericht beantragen.

Klinische Forschung ist notwendig, um die Behandlung von Kranken stetig zu verbessern. Die Verantwortung für diese Studie trägt als Sponsor und Studienleiter Priv.-Doz. Dr. Stefan Kluge, Direktor der Klinik für Intensivmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Er ist für die Einhaltung aller gesetzlichen Anforderungen zur Durchführung einer klinischen Studie zuständig.



Informationen zur Studie

Allgemeine Informationen

Die Studie wurde durch die zuständige Ethik-Kommission geprüft und positiv bewertet.

Die Teilnahme Ihres Angehörigen an der Studie sowie ihr Einverständnis sind freiwillig. Sie können jederzeit und ohne Angabe von Gründen die Teilnahme an der Studie beenden, ohne dass dem/der von Ihnen betreuten Patienten/In dadurch Nachteile im Hinblick auf die Behandlung oder im Verhältnis zu dem behandelnden Arzt entstehen. Die Studienbehandlung wird dann abgebrochen, die Erhebung der Daten muss jedoch unter Umständen weitergeführt werden (siehe „Datenschutzrechtliche Informationen“).

Der/Die von Ihnen betreute Patient/In kann auch durch den Prüfer aus der Studie ausgeschlossen werden, wenn es medizinische oder organisatorische Gründe notwendig machen. Bereits eroberte Daten werden innerhalb der Studie weiter ausgewertet, neue Daten werden nicht erhoben.

Wesen und Bedeutung der Studie, möglicher Nutzen

Eine schwere Sepsis wird durch Veränderungen von Körpertemperatur, Puls, Atemfrequenz, Erhöhung von im Blut zu messenden Entzündungsparametern sowie der Fokussiedung innerer Organe charakterisiert. Nicht selten geht dieses Krankheitsbild in einen septischen Schock mit schweren Beeinträchtigungen des Herz-Kreislauf-Systems über.

Um einen solchen Zustand möglichst frühzeitig erkennen und den Verlauf besser vorhersagen zu können, erfordern wir uns durch Messung eines Produkts (ADMA), der körpereigenen Eiweißsynthese im Blut, einen Parameter zu finden, der bereits eine frühe Aussage darüber zulässt, ob sich ein lebensbedrohlicher Zustand entwickelt, der durch rasche therapeutische Maßnahmen abgewendet werden kann.

Behandlungen und Untersuchungen

Wenn Sie der Studienteilnahme zustimmen, werden dem/der von Ihnen betreuten Patienten/In neben den üblichen Blutentnahmen an drei definierten Tagen zusätzlich 2,7ml Blut aus bereits liegenden Kathetern entnommen wonit wir die Menge des Produkts (ADMA) im Blut messen und kurze DNA-Abschnitte bestreuen, die mit diesem Produkt in Zusammenhang stehen. Die Untersuchung der DNA-Abschnitte beinhaltet nur die Sequenzierung der DNA. Die Untersuchung des Produkts ADMA zu finden ist und bezieht nicht das gesamte Erbgut. Die Erhebung dieser molekulargenetischen Daten dienen nur der Dokumentation in dieser Studie und werden nicht in der klinischen Therapie verwendet. Das Ergebnis der Messung wird mit den klinischen Daten aus der üblichen Intensivmedizinischen Dokumentation ergänzt.

Die Studienteilnahme beträgt maximal 7 Tage und endet bei einer vorzeitigen Verlegung von der Intensivstation.

Risiken / Nebenwirkungen / Versicherungsschutz

Da die zusätzlich zu erhebbende Blutmenge sehr gering ist (sie beträgt weniger als 1/10 der für Routineuntersuchungen benötigten Menge) und die Abnahme aus bereits liegenden Kategorien erfolgt, ist nicht mit Risiken bzw. Nebenwirkungen zu rechnen und somit kein zusätzlicher Versicherungsschutz erforderlich.

Datenschutzrechtliche Informationen

Bei der Datenverarbeitung, die innerhalb der Klinik für Intensivmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf erfolgt, werden die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes eingehalten.

Bei klinischen Prüfungen werden persönliche Daten und medizinische Befunde erhoben. Die Erhebung, Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser Angaben über die Gesundheit erfolgt nach den gesetzlichen Bestimmungen. Danach setzt die Teilnahme an der klinischen Prüfung die vorherige Einwilligung nachfolgenden Inhaltes voraus:

1. Ich bin damit einverstanden, dass die im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobenen personenbezogenen Daten des/der von mir betreuten Patienten/-in, insbesondere Gesundheitsdaten, soweit erforderlich
 - a) zur Einschleifung durch die Überwachungsbehörde oder Beauftragte des Sponsors zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der klinischen Prüfung bereitgehalten werden und pseudonymisiert* an den Sponsor oder eine von diesem beauftragte Stelle zum Zwecke der wissenschaftlichen Auswertung weitergegeben werden
 - b) im Falle eines Auftrages auf Zulassung pseudonymisiert* an den Antragsteller und die für die Zulassung zuständige Behörde weitergegeben werden
 - c) im Falle unerwünschter Ereignisse des zu prüfenden Medizinproduktes pseudonymisiert* an den Sponsor, die lokale sowie zuständige Ethik-Kommission und die zuständige Bundesoberbehörde weitergegeben werden.
2. Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben über die Gesundheit des von mir betreuten Patienten unwiderruflich ist.
3. Ich bin ferner darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme des von mir betreuten Patienten an der klinischen Prüfung beenden kann, im Falle einer Beendigung der Studie auf eigenen Wunsch erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um
 - a) Wertungen des zu prüfenden Produktes festzustellen
 - b) sicherzustellen, dass schutzrechtliche Interessen der von mir betreuten Person nicht beeinträchtigt werden
 - c) der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungsunterlagen zu genügen.
- 4) Ich bin damit einverstanden, dass diese Daten bei den genannten Stellen für die Zeit der Bearbeitung und des Genehmigungsverfahrens gespeichert werden.

(* Pseudonymisieren ist das Ersetzen des Namens und anderer Identifikationsmerkmale durch ein Kennzeichen zu dem Zweck, die Bestimmung des Betroffenen auszuschließen oder schwierig zu erschweren.)

Ich wurde ferner darüber informiert, dass im Falle einer Beendigung der Studie auf eigenen Wunsch die verantwortlichen Stellen zu prüfen haben, inwieweit die gespeicherten Daten für die vorgenannten Zwecke a) bis c) noch erforderlich sein können. Mir wurde mitgeteilt, dass nicht mehr benötigte Daten unverzüglich gelöscht werden und im Übrigen die erhobenen personenbezogenen Daten nach Ablauf von 10 Jahren ab dem Ende der klinischen Prüfung gelöscht werden, sofern nicht gesetzliche, satzungsmäßige oder vertragliche Aufbewahrungspflichten entgegenstehen

Bei der Veröffentlichung von Studienergebnissen wird aus den Daten nicht hervorgehen, wer an dieser Studie teilgenommen hat. Ein Bezug zu der von mir betreuten Person kann nicht hergestellt werden.

Weitere Informationen

Falls im Verlauf der Studie wichtige neue Erkenntnisse bekannt werden, die sich auf die weitere Teilnahme des von Ihnen betreuten Patienten an dieser Studie auswirken könnten, werden Sie darüber umgehend informiert.

Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, wenden Sie sich bitte an den Leiter der klinischen Prüfung:

Dr. med. Stefan Kluge
 Direktor der Klinik für Intensivmedizin
 Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
 Tel.: 040 / 7410-57010, Fax: 040 / 7410-57020
 E-mail: skluge@uke.de

Sollten Sie Informationen von einer unabhängigen Kontaktstelle wünschen, um Auskünfte über alle Umstände, denen eine Bedeutung für die Durchführung einer klinischen Prüfung beizumessen ist, einzubohlen, so steht Ihnen die Patientenkontaktstelle des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte zur Verfügung:

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte Fachgebiet Klinische Prüfung / Inspektionen Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3, 53175 Bonn
 Telefon: 0228-207 - 4318 Fax: 0228-207 - 4355
 E-Mail: KlinischePruefung@bismn.de

Einwilligungserklärung zur Studie

Untersuchung von ADMA (Asymmetrischem-Dimethylarginin)- Serumspiegeln und DDH II (Dimethylaminhydroxase)-P-olymorphismen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock als Prognoseparameter

Name, Vorname, Geburtsdatum des Patienten

Ich wurde durch

(Name, Vorname des aufkündenden Patienten)

über die Studie informiert. Ich habe die schriftliche Information zur oben genannten Studie erhalten. Mir wurde eine Kopie meiner unterschriebenen Einwilligungserklärung zur Teilnahme des von mir betreuten Patienten ausgestellt. Ich habe beide Dokumente gelesen und verstanden. Ich wurde ausführlich – mündlich und schriftlich – über das Ziel, den Verlauf der Studie, Chancen und Risiken der Behandlung, meine Rechte und Pflichten, den zuzustehenden Versicherungsschutz für den von mir betreuten Patienten und die Freiwilligkeit der Teilnahme aufgeklärt.

Ich hatte Gelegenheit Fragen zu stellen. Diese wurden mir zufriedenstellend und vollständig beantwortet. Zusätzlich zur schriftlichen Information wurden folgende Punkte besprochen:

Ich wurde darüber informiert, dass die Teilnahme des von mir betreuten Patienten an der Studie freiwillig ist und dass ich meine Einwilligung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass dem von mir betreuten Patienten dadurch Nachteile bei der weiteren Behandlung entstehen.

Ich erkläre hiermit meine freiwillige Einwilligung zur Teilnahme des von mir betreuten Patienten an der oben genannten Studie. Ich wurde über meine Datenschutzrechte informiert. Mir ist bekannt, dass bei dieser klinischen Prüfung personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, die über sie oder ihn erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über ihn bzw. seine Gesundheit erfolgt nach den gesetzlichen Bestimmungen.

Ort / Datum (gepünktlich)

(Name, Vorname der/den Angehörigen des Bevollmächtigten bzw. der Betreuenden (des Betreuers))

(Unterschrift der/des Angehörigen, des Bevollmächtigten bzw. der Betreuenden (des Betreuers))

5

Bestätigung des aufkündenden Arztes

Der/Die Angehörige, Bevollmächtigte bzw. Betreuer/in wurde von mir nach den Vorschriften des Arzneimittelgesetzes und den ICH-GCP Richtlinien über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Teilnahme an der Studie in mündlicher und schriftlicher Form aufgeklärt. Ich konnte schriftliche Fragen zur Zufriedenheit beantworten. Der/Die Angehörige, Bevollmächtigte bzw. Betreuer/in hat ohne Zwang die Einwilligung in die Studienaufnahme erklärt. Eine Kopie der Information und der Einwilligungserklärung habe ich dem/der Angehörigen, Bevollmächtigten bzw. Betreuer/in ausgestellt.

Ort / Datum

Name des aufkündenden Arztes

Unterschrift des aufkündenden Arztes

6

8.3.2. Für einwilligungsfähige Patienten



**Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf**

Klinik für Intensivmedizin
Chefarzt
Priv.-Doz. Dr. Stefan Kluge

Zentrum für Anästhesiologie
und Intensivmedizin

Martinstraße 52
20241 Hamburg
Telefon: (040) 7410-3700
Telefax: (040) 7410-3706
s.kluge@klinik.uni-hamburg.de
www.klinik.uni-hamburg.de

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinstraße 52 | 20241 Hamburg

Information / Einwilligung für Patienten

zur klinischen Studie ADSES

Untersuchung von ADMA (Asymmetrischem-Dimethylarginin)- Serumspiegeln und DDAH II (Dimethylaminhydroxylase) -Polymorphismen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock als Prognoseparameter

Sponsor / Leiter der klinischen Prüfung:
PD Dr. med. Stefan Kluge
Direktor der Klinik für Intensivmedizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinstr. 52
20246 Hamburg

Sehr geehrte(r) Patient



Ihr behandelnder Arzt stellt Ihnen heute eine klinische Studie vor, mit deren Ergebnissen wir Patienten in der frühen Phase einer schweren Sepsis oder in einem septischen Schocks früher erkennen und damit auch effektiver therapieren wollen. Wir möchten Sie um Ihre Einwilligung zur Teilnahme an dieser Studie bitten. Sie erhalten in folgenden Informationen zum Ablauf der klinischen Studie. Klinische Forschung ist notwendig, um die Behandlung von Kranken stetig zu verbessern.

Die Verantwortung für diese Studie trägt als Sponsor und Studienleiter Priv.-Doz. Dr. Stefan Kluge, Direktor der Klinik für Intensivmedizin, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf. Er ist für die Einhaltung aller gesetzlichen Anforderungen zur Durchführung einer klinischen Studie zuständig.

Informationen zur Studie

Allgemeine Informationen

Die Studie wurde durch die zuständige Ethik-Kommission geprüft und positiv bewertet. Die Teilnahme an der Studie sowie ihr Einverständnis sind freiwillig. Sie können jederzeit und ohne Angabe von Gründen die Teilnahme an der Studie beenden, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile im Hinblick auf die Behandlung oder im Verhältnis zu dem behandelnden

1

Arzt entstehen. Die Studienbehandlung wird dann abgebrochen, die Erhebung der Daten muss jedoch unter Umständen weitergeführt werden (siehe Datenschutzrechtliche Informationen!).
Sie als Patient können auch durch den Prüfer aus der Studie ausgeschlossen werden, wenn es medizinische oder organisatorische Gründe notwendig machen. Bereits erhobene Daten werden innerhalb der Studie weiter ausgewertet, neue Daten werden nicht erhoben.

Wesen und Bedeutung der Studie, möglicher Nutzen

Eine schwere Sepsis wird durch Veränderungen von Körpertemperatur, Puls, Atemfrequenz, Erhöhung von im Blut zu messenden Entzündungsparametern, sowie der Funktionsleistung innerer Organe charakterisiert. Nicht selten geht dieses Krankheitsbild in einen septischen Schock mit schweren Beeinträchtigungen des Herz-Kreislauf-Systems über.

Um einen solchen Zustand möglichst frühzeitig erkennen und dem Verlauf besser vorhersagen zu können, erheben wir uns durch Messung eines Produkts (ADMA) der körpereigenen Eiweißsynthese im Blut, einen Parameter zu finden, der bereits eine frühe Aussage darüber zulässt, ob sich ein lebensbedrohlicher Zustand entwickelt, der durch rasche therapeutische Maßnahmen abgewendet werden kann.

Behandlungen und Untersuchungen

Wenn Sie der Studienabnahme zustimmen, werden wir Ihnen neben den üblichen Blutentnahmen an drei definierten Tagen zusätzlich 2,7ml Blut aus bereits liegenden Kathetern abnehmen, wonach wir die Menge des Produkts (ADMA) in Ihrem Blut messen und kurze DNA-Abschnitte bestimmen, die mit diesem Produkt in Zusammenhang stehen. Die Untersuchung der DNA-Abschnitte beinhaltet nur die Stellen, auf denen ein Abbauenzym des Produkts ADMA zu finden ist und bestimmt nicht das gesamte Erbgut. Die Erhebung dieser molekulargenetischen Daten dient nur der Dokumentation in dieser Studie und wird nicht in der klinischen Therapie verwendet. Das Ergebnis der Messung wird mit den klinischen Daten aus der üblichen intensivmedizinischen Dokumentation ergänzt.

Die Studiendauer beträgt maximal 7 Tage und endet bei einer Verlegung von der Intensivstation

Risiken / Nebenwirkungen / Verstärkerungsmaßnahmen

Da die zusätzlich zu entnehmende Blutmenge sehr gering ist (sie beträgt weniger als 1/10 der für Routineuntersuchungen benötigten Menge) und die Abnahme aus bereits liegenden Kathetern erfolgt, ist nicht mit Risiken bzw. Nebenwirkungen zu rechnen und somit kein zusätzlicher Versicherungsschutz erforderlich.

Datenschutzrechtliche Informationen

2

Bei der Datenverarbeitung, die innerhalb der Klinik für Intensivmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf erfolgt, werden die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes eingehalten.

Bei klinischen Prüfungen werden persönliche Daten und medizinische Befunde erhoben. Die Erhebung, Weitergabe, Speicherung und Auswertung dieser Angaben über die Gesundheit erfolgt nach den gesetzlichen Bestimmungen. Danach setzt die Teilnahme an der klinischen Prüfung die vorherige Einwilligung nachfolgenden Inhalats voraus:

1. Ich bin damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobenen personenbezogenen Daten, insbesondere Gesundheitsdaten, soweit erforderlich
a) zur Erleichterung durch die Überwachungsbehörde oder Beauftragte des Sponsors zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der klinischen Prüfung beibehalten werden und pseudonymisiert an den Sponsor oder eine von diesem beauftragte Stelle zum Zwecke der wissenschaftlichen Auswertung weitergegeben werden
b) im Falle eines Antrags auf Zulassung pseudonymisiert an den Antragsteller und die für die Zulassung zuständige Behörde weitergegeben werden
c) im Falle unerwünschter Ereignisse des zu prüfenden Medizinprodukts pseudonymisiert* an den Sponsor, die lokale sowie zuständige Ethik-Kommission und die zuständige Bundesoberbehörde weitergegeben werden.
2. Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben über meine Gesundheit unwiderruflich ist.
3. Ich bin ferner darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der klinischen Prüfung beenden kann. Im Falle einer Beendigung der Studie auf eigenen Wunsch erkläre ich mich damit einverstanden, dass die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um
a) Wirkungen des zu prüfenden Produktes festzustellen
b) sicherzustellen, dass schutzwürdige Interessen nicht beeinträchtigt werden
c) der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungunterlagen zu genügen.
- 4) Ich bin damit einverstanden, dass diese Daten bei den genannten Stellen für die Zeit der Bearbeitung und des Genehmigungsverfahrens gespeichert werden.
(* Pseudonymisierung ist das Ersetzen des Namens und anderer Identifikationsmerkmale durch ein Kennzeichen zu dem Zweck, die Bestimmung des Betroffenen auszuschließen oder wesentlich zu erschweren.)

Ich würde ferner darüber informiert, dass im Falle einer Beendigung der Studie auf eigenen Wunsch die verantwortlichen Stellen zu prüfen haben, inwieweit die gespeicherten Daten für die vorgenannten Zwecke a) bis c) noch erforderlich sein können. Mir wurde mitgeteilt, dass nicht mehr benötigte Daten unverzüglich gelöscht werden und im Übrigen die erhobenen personenbezogenen Daten nach Ablauf von 10 Jahren ab dem Ende der klinischen Prüfung gelöscht werden, sofern nicht gesetzliche, satzungsmäßige oder vertragliche Aufbewahrungspflichten entgegenstehen

Bei der Veröffentlichung von Studienergebnissen wird aus den Daten nicht hervorgehen, wer an dieser Studie teilgenommen hat. Ein Bezug zu meiner Person kann nicht hergestellt werden.

3

Weitere Informationen

Falls im Verlauf der Studie wichtige neue Erkenntnisse bekannt werden, die sich auf die weitere Teilnahme von Ihnen an dieser Studie auswirken könnten, werden Sie darüber umgehend informiert.

Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, wenden Sie sich bitte an den Leiter der klinischen Prüfung:

PD Dr. med. Stefan Kluge
Direktor der Klinik für Intensivmedizin
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Tel.: 040 / 7410-57010, Fax: 040 / 7410-57020
E-mail: skluge@uke.de

Sollten Sie Informationen von einer unabhängigen Kontaktstelle wünschen, um Auskünfte über alle Umstände, denen eine Bedeutung für die Durchführung einer klinischen Prüfung beizumessen ist, anzubieten, so steht Ihnen die Patientenkontaktstelle des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte zur Verfügung:

Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte Fachgebiet Klinische Prüfung / Inspektionen Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3, 53175 Bonn
Telefon: 0228-207 - 4318 Fax: 0228-207 - 4355
E-Mail: klinpruefung-bi@bfi.bund.de

4

Einwilligungserklärung zur Studie

Untersuchung von ADMA (Asymmetrischem-Dimethylarginin)- Serumspiegeln und DDH II (Dimethylaminhydrolase)-Polymorphismen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock als Prognoseparameter

(Name, Vorname, Geburtsdatum des Patienten)

Ich wurde durch _____

(Name, Vorname des aufklärenden Patienten)

Über die Studie informiert, ich habe die schriftliche Information zur oben genannten Studie erhalten. Mir wurde eine Kopie meiner unterschriebenen Einwilligungserklärung zur Teilnahme ausgestellt. Ich habe beide Dokumente gelesen und verstanden. Ich wurde ausführlich – mündlich und schriftlich – über das Ziel, den Verlauf der Studie, Chancen und Risiken der Behandlung, meine Rechte und Pflichten, den zustehenden Versicherungsschutz für mich und die Freiwilligkeit der Teilnahme aufgeklärt.

Ich hatte Gelegenheit Fragen zu stellen. Diese wurden mir zufriedenstellend und vollständig beantwortet. Zusätzlich zur schriftlichen Information wurden folgende Punkte besprochen:

Ich wurde darüber informiert, dass die Teilnahme an der Studie freiwillig ist und dass ich meine Einwilligung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir dadurch Nachteile bei der weiteren Behandlung entstehen.

Ich erkläre hiermit meine freiwillige Einwilligung zur Teilnahme an der oben genannten Studie. Ich wurde über ihre seine Datenschutzrechte informiert. Mir ist bekannt, dass bei dieser klinischen Prüfung personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, die über erhoben werden, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach den gesetzlichen Bestimmungen.

Ort / Datum (gekennzeichnet)

(Name, Vorname des/der Patienten)

5

Bestätigung des aufklärenden Arztes

Der Patient wurde von mir nach den Vorschriften des Arzneimittelgesetzes und den ICH-GCP Richtlinien über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Teilnahme an der Studie in mündlicher und schriftlicher Form aufgeklärt. Ich konnte seine/ihre Fragen zur Zufriedenheit beantworten. Der Patient hat ohne Zwang die Einwilligung in die Studienteilnahme erklärt. Eine Kopie der Information und der Einwilligungserklärung habe ich dem Patienten ausgestellt.

Ort / Datum

Name des aufklärenden Arztes

Unterschrift des aufklärenden Arztes

6

8.4. Weitere in der Studie bestimmte Parameter

Tabelle 3

Klinische und laborchemische Charakteristika aufgeteilt nach Überleben und Nicht-Überleben der Messung an Tag 1

Tag 1	<u>Überlebende</u>		<u>Nicht Überlebende</u>		T-Test*/ Mann- Whitney-U Test**
Parameter	Median	Interquartilsabstand	Median	Interquartilsabstand	p-Wert
Leukozyten	12,9	(8,7-19,3)	12,1	(6,7-16,1)	0,159*
Laktat	1	(0,8-1,5)	1,2	(0,9-2,4)	0,024*
Noradrenalin	1	(0-2)	1	(0-2)	0,809**
Herzfrequenz	94	(82-110)	104	(90-113)	0,025*
Syst. RR	123	109-144,5)	112	(108-141)	0,197*
Base Excess	-0,6	(-4,45—4,05)	-2,4	(-7,0-2,1)	0,110*

Tabelle 4

Klinische und laborchemische Charakteristika aufgeteilt nach Überleben und Nicht-Überleben der Messung an Tag 7

Tag 7	<u>Überlebende</u>		<u>Nicht Überlebende</u>		T-Test*/ Mann- Whitney-U Test*
Parameter	Median	Interquartilsabstand	Median	Interquartilsabstand	p-Wert
Leukozyten	11,9	(8,6-17,1)	11,5	(7,5-19,8)	0,242*
Laktat	0,9	(0,7-1,2)	1,5	(1,0-2,7)	0,004*
Noradrenalin	0	(0-0)	0	(0-2)	0,006**
Herzfrequenz	82	(71-88)	92	(79-108)	0,009*
Syst. RR	136	(127-151)	117	(110-133)	0,011*
Base Excess	3,05	(0,43-6,87)	-2,1	(-5,6-4,5)	0,002*

Alle Werte sind als Mittelwerte mit den zugehörigen Interquartilsabständen in Klammern angegeben. Kreatinin, Harnstoff, Bilirubin, CRP wurden in mg/dl, PCT in µg/l, IL6 in ng/l, Laktat, BaseExcess in mmol/l, Leukozyten in Mrd./l, Noradrenalin in µg/kg*min, Herzfrequenz in b/min, syst. RR in mmHg gemessen. SOFA=Sequential Organ Failure Assessment, SAPS II =Simplified Acute Physiology Score. P Wert des T-Tests sind mit (*) dargestellt, p-Wert* für nichtparametrische Variablen mit Mann-Whitney U Test sind mit (**) dargestellt.

9. Danksagung

Herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Stefan Kluge, Direktor der Klinik für Intensivmedizin, am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf für das Vertrauen, die vielfältige Unterstützung, die gute Betreuung während des Projekts und die Möglichkeit an einer Studie mitzuwirken, die mit dem Thema Sepsis eine hochrelevante Problematik im medizinischen Versorgungsalltag darstellt. Herzlicher Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Rainer Böger, Direktor des Instituts für klinische Pharmakologie und Toxikologie, für seine Unterstützung bei diesem Dissertationsprojekt und dem damit verbundenen lehrreichen Einblick in das Institut und dessen Arbeitsweise.

Herzlich bedanke ich mich bei Herrn Dr. Axel Nierhaus, geschäftsführender Oberarzt in der Klinik für Intensivmedizin am UKE, dass seine Expertise auf dem Gebiet der Sepsis in diese Arbeit mit einfließen durfte. Genauso auch für die Geduld bei Lektorat und den nicht immer einfachen Korrekturen.

Sehr bedanke ich mich bei Priv.-Doz. Dr. Edzard Schwedhelm aus dem Institut für klinische Pharmakologie am UKE der mir bei Verfassen und Strukturierung des Textes besondere Hilfestellung gegeben hat. Bezüglich Textarbeit hat mich Herr Peter Riechel zusätzlich sehr unterstützt weshalb ich ihm für die Optimierung von Semantik und Rechtschreibung danken will.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. Olaf Harlandt für seine umfangreiche Unterstützung in allen die Dissertation betreffenden Fragen wie Literaturrecherche, praktische Studiendurchführung, Dokumentation von Studienparametern und vielem mehr.

Einen großen Dank möchte ich auch an Birgit Füllekrug richten, ehem. Studienschwester der Klinik für Intensivmedizin, die nicht nur werktags, sondern auch an Wochenenden und Feiertagen unermüdlich die potentielle Teilnehmer gescreent, Studienaufklärungen bereitgestellt, die Blutentnahmen durchgeführt und das Follow-up dokumentiert hatte. Bedanken möchte ich mich auch bei meinem guten Freund aus frühen Kindheitstagen Matthias Roßbach, der mir seine Expertise als Medizinphysiker zur Verfügung gestellt hat, um die Dokumentation der Studienparameter unter Excel zu bewerkstelligen.

Danken möchte ich auch Frau Susanne Lezius, Medizinstatistikerin am UKE, für die hervorragende Beratung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Für die geleistete Arbeit in der Laboranalyse der Dimethylarginine möchte ich Mariola Kastner und Anette Steenpass, medizintechnische Assistentinnen am Institut für klinische Pharmakologie am UKE, danken.

Außerdem möchte ich mich bei meinem geliebten Vater Friedrich Rösler bedanken, der am 23. April 2017 verstorben ist und dem diese Arbeit gewidmet ist. Er hat mir zu Lebzeiten mit motivierenden Worten und seinen liebevoll geschaffenen Rahmenbedingungen für das Schreiben, die Fertigstellung dieses Projekts überhaupt ermöglicht. Ich vermisse Dich sehr.

Nicht vergessen möchte ich meine Schwester Maria Rösler die mir oftmals über Durststrecken und Schreibblockaden hinweggeholfen hat.

Abschließend möchte ich mich vor allem bei meiner Lebenspartnerin Dr. Christina Riechel für ihre Kraft und ihre fachliche wie mentale Unterstützung bedanken, sowie für die Akzeptanz, dass ich einen großen Teil unserer gemeinsamen Freizeit für die Dissertation aufgewendet habe.

“ Das schönste Denkmal, das ein Mensch bekommen kann, steht in den Herzen der Mitmenschen“

Albert Schweitzer

10. Lebenslauf

Der Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.



gewidmet
meinem Vater

Friedrich Ferdinand Rösler

* 9. August 1941 – † 24. April 2017

11. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: