

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Klinik für
Intensivmedizin

Direktor: PD Dr. med. S. Kluge

Prognostische und diagnostische Wertigkeit von Nucleated Red Blood Cells bei Intensivpatienten mit und ohne Sepsis

Dissertation

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

vorgelegt von:
Jörg Hedke
aus Solingen

Hamburg 2011

**Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 17.01.2012**

**Veröffentlicht mit der Genehmigung des Fachbereiches Medizin
der Universität Hamburg**

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: PD Dr.med. Stefan Kluge
Prüfungsausschuss, 2. Gutachter: Prof. Dr.med. Friedrich Thaiss
Prüfungsausschuss, 3. Gutachter: Prof. Dr.med. Ulf Panzer

Inhaltsverzeichnis

1	Arbeitshypothese und Fragestellung.....	5
2	Einleitung	6
2.1	Inflammation und Antiinflammation.....	6
2.2	SIRS und Sepsis.....	8
2.2.1	Epidemiologie und Ökonomie der Sepsis.....	10
2.2.2	Ätiologie und Pathophysiologie der Sepsis.....	10
2.3	Nucleated Red Blood Cells	13
2.3.1	Definition NRBC.....	13
2.3.2	Die Regulation der Erythropoese.....	13
2.3.3	Prognostische Bedeutung der NRBC	15
2.4	Scoring-Systeme in der Intensivmedizin.....	16
2.4.1	Simplified Acute Physiology Score II	17
2.4.2	Sequential Organ Failure Assessment	19
2.5	Immunmonitoring und neue Infektionsparameter	20
2.5.1	C-reaktives Protein	21
2.5.2	Interleukin-6	22
3	Material und Methoden	24
3.1	Studienprotokoll	24
3.2	Messung der NRBC	25
3.2.1	Messprinzip der Durchflusszytometrie.....	26
3.2.2	Fluoreszenzfarbstoffe	26
3.2.3	Messung der NRBC.....	28
3.3	Statistische Methoden.....	29
4	Ergebnisse	30
4.1	Demografie	30
4.2	Analyse der Verlaufsparemeter	34
4.3	Ergebnisse der Score-Systeme	35
4.3.1	SAPS II	35
4.3.2	Sequential Organ Failure Assessment	37
4.4	Ergebnisse der NRBC-Messung.....	39
4.4.1	Ergebnisse der NRBC-Messung in der Sepsisgruppe.....	41

Inhaltsverzeichnis	4
4.5 Ergebnisse der Routineparameter im Verlauf.....	42
4.5.1 Überlebende vs. Verstorbene	42
4.5.2 Non-Sepsis-Gruppe vs. Sepsis-Gruppe	44
4.6 ROC-Analysen	46
4.6.1 Überlebende vs. Verstorbene	46
4.6.2 Non-Sepsis-Gruppe vs. Sepsis-Gruppe	48
4.6.3 ROC-Analyse der Sepsis-Gruppe.....	49
5 Diskussion	50
5.1 Aussage	50
5.2 Patientenkollektiv und Analyseverfahren	50
5.3 Diskussion der Ergebnisse im Einzelnen	52
5.4 Methodenkritik.....	55
5.5 Zusammenfassung	56
6 Anhang.....	57
6.1 Simplified Acute Physiology Score II	57
6.2 Glasgow Coma Scale.....	59
6.3 Sequential Organ Failure Assessment	60
7 Abbildungsverzeichnis	61
8 Tabellenverzeichnis	63
9 Literaturverzeichnis	64
10 Abkürzungsverzeichnis	74
11 Danksagung	76
12 Lebenslauf.....	77
13 Eidesstattliche Erklärung.....	78

1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Septische Komplikationen und systemische Inflammation sind bedeutende Faktoren für Morbidität und Mortalität bei kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation. Komplexe immunologische Vorgänge, die im Laufe der vergangenen Jahre immer genauer dargestellt werden konnten, führen bei vielen Patienten zur Immundysfunktion oder -paralyse mit konsekutiven Infektionen und gesteigerter Mortalität [1]. Eine Vielzahl von zellulären oder humoralen Parametern wurde im Laufe der letzten 20 Jahre zur Charakterisierung des Immunstatus und zur Abschätzung der Prognose propagiert. Die in der klinischen Praxis und im Rahmen von Forschungsvorhaben zurzeit am häufigsten bestimmten Parameter bei Patienten mit systemischer Inflammation und Sepsis sind: C-reaktives Protein, Leukozytenzahl, Procalcitonin, Interleukin 6, TNF- α ex-vivo Stimulationstest und monozytäres HLA-DR [2-5]. Die Erkrankungsschwere und das Auftreten von Organversagen kann bei Intensivpatienten anhand von etablierten Scoresystemen wie dem Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) und dem Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) erfasst werden [6].

Das Auftreten von nucleated red blood cells (NRBC) wurde in den fünfziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts zuerst bei terminal herzinsuffizienten Patienten beschrieben. Man vermutete eine Reaktion des Knochenmarks auf eine stattgefundene Hypoxie. In den letzten Jahren konnten Stachon und Mitarbeiter jedoch einen engen Zusammenhang zwischen Mortalität und dem Auftreten von NRBC in einem Gesamtkollektiv von hospitalisierten Patienten nachweisen [7].

In der hier durchgeführten klinischen Studie wurden bei 58 konsekutiven Intensivpatienten die prognostische Wertigkeit des Parameters NRBC hinsichtlich Mortalität und Nachweis einer Sepsis überprüft. Hierzu wurden Patienten eingeschlossen, deren voraussichtliche Liegedauer auf der Intensivstation 72 Stunden überstieg. Die täglich erfassten Parameter umfassten: NRBC, Differenzialblutbild, C-reaktives Protein, Interleukin 6 und die Intensivscores SAPS II und SOFA, die Liegedauer auf der Intensivstation, die ICU bzw. die 28 Tage- und Krankenhausmortalität. Auftretende Infektionen werden nach CDC-Kriterien charakterisiert.

2 Einleitung

2.1 Inflammation und Antiinflammation

Die Fähigkeit des menschlichen Organismus, seine Körperfunktion an veränderte oder pathologische Umweltbedingungen anzupassen, ist für unser Überleben essenziell. Die innere Homöostase spielt dabei eine außerordentlich große Rolle. Ein Ungleichgewicht zwischen korrespondierenden Komponenten kann zu pathologischen Verhältnissen führen, die den Organismus gefährden bzw. vital bedrohen, indem wichtige physiologische Funktionen nicht mehr aufrechterhalten werden. Dennoch ist in gewissen Situationen wie z.B. im Rahmen der Immunantwort ein gewisses Ungleichgewicht erwünscht und unumgänglich. Das Immunsystem reagiert auf unterschiedliche schädigende Reize mit einer physiologischen Aktivierung, um so die lokale Schädigung im Rahmen zu halten und Schaden für den gesamten Organismus abzuwenden. Erreicht dieser Prozess einen klinischen Krankheitswert mit Fieber, Krankheitsgefühl und steigenden Entzündungszeichen, so spricht man von einem „Systemic Inflammatory Response Syndrom“ (SIRS) [8, 9].

Gleichzeitig wird vom Körper eine protektive Gegenregulation eingeleitet, das „Compensatory Antiinflammatory Response Syndrome“ (CARS), welches eine Überaktivierung und die damit verbundene Organismusschädigung eingrenzen soll. Kommt es zu einem Ungleichgewicht dieser Mechanismen, so kann dies schwer wiegende Folgen mit entsprechend verbundenen Komplikationen und einer entsprechend hohen Mortalität haben.

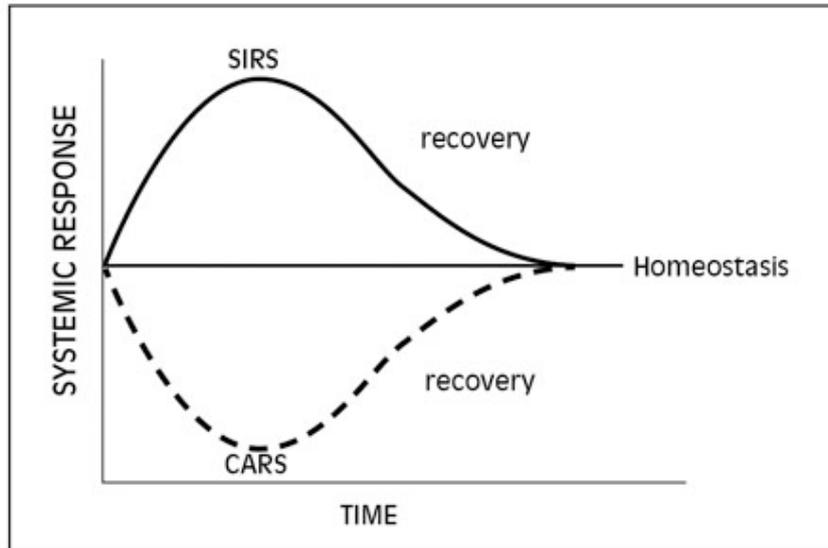


Abbildung 1. Verhältnis von SIRS und CARS [10]

2.2 SIRS und Sepsis

Der Begriff „Sepsis“ leitet sich von dem griechischen „faul machen“ ab, erstmalig von Hippokrates (ca. 460-370 v Chr.) beschrieben. Der Verständniswandel von Sepsis als „Fäulnis“ hin zu einer bakteriellen Infektion setzte dagegen erst sehr viel später ein. „Eine Sepsis liegt dann vor, wenn sich innerhalb des Körpers ein Herd gebildet hat, von dem kontinuierlich oder periodisch pathogene Bakterien in den Kreislauf gelangen und zwar derart, dass durch diese Invasion subjektive und objektive Krankheitserscheinungen ausgelöst werden.“ Diese erste Definition wurde 1914 von H. Schottmueller, Ordinarius der Poliklinik des Klinikums Hamburg-Eppendorf, formuliert und war damit die erste gültige Definition der Sepsis, welche die Ätiologie und Pathogenese näher beschrieb und berücksichtigte [11]. Aufgrund der komplexen Pathophysiologie der Sepsis dauerte es bis 1992, als auf der Consensus Konferenz des American College of Chest Physicians und der Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM) unter der Leitung von Roger C. Bone die Begriffe „SIRS, Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock“ ihre erste gültige Definition erhielten [8]. Die führenden Wissenschaftler erhofften sich, daraus neue Erkenntnisse über die Pathologie der Krankheitsbilder zu erlangen bzw. neue innovative Behandlungsstrategien erarbeiten zu können.

Mit „Systemic Inflammatory Response Syndrom“ (SIRS) wurde ein Krankheitsbild definiert, das eine entzündliche Immunreaktion des Organismus mit Tachykardie, Tachypnoe, Temperaturerhöhung und Leukozytose beschreibt, ohne dass jedoch ein definitiver pathogener Erregernachweis bestätigt wird. Auslöser für das SIRS können sein: Trauma, Operationen, Verbrennungen sowie die Pankreatitis.

Das Systemische Inflammatorische Response-Syndrom (SIRS) ist eine klinische Reaktion auf eine unspezifische Schädigung, die zwei oder mehr der folgenden Symptome aufweist:

- Hyper- (≥ 38 °C) oder Hypothermie (≤ 36 °C)
- Tachykardie (Herzfrequenz ≥ 90 /Minute oder ≥ 2 SD des Altersnormwerts)
- Tachypnoe (Atemfrequenz ≥ 20 /Minute) und / oder Hyperventilation ($P_aCO_2 < 32$ mmHg) und / oder maschinelle Beatmung
- Leukozytose ($\geq 12.000/mm^3$) oder Leukopenie ($\leq 4.000/mm^3$) oder ≥ 10 % unreife Neutrophile im Differenzialblutbild

Kann ein pathogener Erreger nachgewiesen werden, so spricht man laut der ACCP/SCCM-Konsensus-Kriterien von einer Sepsis. Das klinische Erkrankungsbild definiert dann die drei verschiedenen Schweregrade.

Entsprechend den ACCP/SCCM-Diagnosekriterien der Sepsis novellierte die Deutsche Sepsis Gesellschaft 2005 die S2-Leitlinien [12].

Eine schwere Sepsis ist eine Sepsis mit einfachem oder mehrfachem Organversagen:

- Kardiovaskulär: arterielle Hypotension
- Renal: Diurese $\leq 0,5$ ml/kg/h über min. 2 Stunden (trotz ausreichender Volumengabe) oder Anstieg des Serumkreatinins auf mehr als das Doppelte des Referenzbereiches
- Respiratorisch: $P_aO_2 / F_iO_2 < 250$ mmHg
- Koagulopathie: Abfall der Thrombozyten um > 30 % innerhalb 24 h oder Thrombozyten $\leq 100.000/mm^3$
- ZNS: akute Störung der Bewusstseinslage (Unruhe, Delirium, eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit)
- Metabolische Azidose ohne erkennbare Ursache: Base Excess (BE) ≤ -5 mmol/L oder Laktat mehr als das 1,5-Fache des Referenzbereiches

Von einem septischen Schock gemäß den S2-Leitlinien spricht man, wenn zu den o.a. Kriterien für wenigstens 1 Stunde ein systolischer arterieller Blutdruck < 90 mmHg bzw. ein MAP < 65 mmHg oder notwendiger Vasopressoreinsatz um eine entsprechende Perfusion zu erreichen.

2.2.1 *Epidemiologie und Ökonomie der Sepsis*

Die im Jahre 2003 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) in Auftrag gegebene und vom Kompetenznetzwerk Sepsis (SepNet) durchgeführte epidemiologische Studie zur Prävalenz, Letalität, Kosten sowie Diagnose- und Therapiegewohnheiten der Sepsis bestätigte die bisher nur aus anderen Ländern vorliegenden Daten zur schlechten Prognose der schweren Sepsis und des septischen Schocks für Deutschland. Im Zeitraum von einem Jahr wurden an 1380 deutschen Krankenhäusern insgesamt 3877 Patienten durch erfahrene Intensivmediziner des SepNet anhand der ACCP/SCCM-Kriterien für Sepsis klassifiziert. Die Prävalenz wurde mit 34,7 % beziffert [13]. Auf die Bundesrepublik Deutschland hochgerechnet, ergab dies eine Prävalenz von 79.000 Einwohnern pro Jahr, die an einer Sepsis erkranken und sogar 75.000 Einwohner pro Jahr mit einer schweren Sepsis. Die Letalität der schweren Sepsis und des septischen Schocks liegt dabei mit 54 % trotz aller therapeutischen Bemühungen sehr hoch. Damit nehmen septische Erkrankungen den dritten Platz in der Liste der häufigsten Todesursachen ein – direkt hinter dem akuten Myokardinfarkt und den bösartigen Neubildungen [13, 14]. Neben dem persönlichen Schicksal jedes einzelnen Patienten steht auch der volkswirtschaftliche Schaden mit seinem hohen Aufwand von personellen und finanziellen Ressourcen in keinem Verhältnis zur schlechten Prognose. Die direkten Kosten für Patienten mit einer schweren Sepsis werden auf schätzungsweise 1,77 Mrd. € pro Jahr beziffert, was etwa 30 % des Budgets für Intensivmedizin ausmacht [13].

2.2.2 *Ätiologie und Pathophysiologie der Sepsis*

Der Sepsis liegt eine dramatische Überaktivierung sowohl der humoralen als auch der zellulären Immunantwort zu Grunde. Durch pathogene Erreger und ihre Produkte, die so genannten „pathogen associated patterns“ (PAMPs), wird eine überschießende Immunreaktion begünstigt, die auch eine infektionsortferne Organdysfunktion bis hin zum Multiorganversagen (MODS) nach sich ziehen kann [15]. Bakterielle Membranbestandteile, Exotoxine, bakterielle DNA oder virale RNA (PAMPs) initiieren mit ihrer Bindung an korrespondierende Rezeptoren auf oder in immunkompetenten Zellen, den so genannten „pattern recognition receptors“ (PRR), die physiologische Immunreaktion des Organismus. Abhängig von den verschiedenen prädisponierenden Faktoren wie Immunstatus, Alter, Virulenz der

Pathogene, Zeit bis zum Beginn der antibiotischen Therapie etc. kann es zu einer überschießenden Immunantwort des Organismus kommen. Die Aktivierung von Monozyten und Makrophagen sowie die Produktion von frühen proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α und IL-1 können eine unkontrollierte Hyperinflammation nach sich ziehen, welche die zentrale Rolle in der Pathogenese der Sepsis, des septischen Schocks bzw. im ausgeprägtesten Bild der Sepsis, dem frühen MOF (Multiple Organ Failure), einnehmen.

Unterstützt durch die Produktion von IL-6 kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von hepatischen Akute-Phase-Proteinen wie C-reaktivem Protein oder α -2-Makroglobulin. Fast gleichzeitig werden jedoch auch kompensatorisch antiinflammatorische Zytokine wie IL-4 und IL 10 induziert [16]. Die Maximalvariante des Ungleichgewichts von anti- und pro-inflammatorischen Zytokinen zugunsten der Antiinflammation mündet in einer sekundären, erworbenen Immuninkompetenz („Immunparalyse“) mit nachfolgendem MODS, die der zu Grunde liegenden Bakteriämie, Endotoxinämie sowie der Progredienz der Infektion keinen Einhalt mehr gebieten kann [15, 17].

Die vielerseits gefürchteten Folgen der überschießenden Immunantwort reichen von endothelialer Dysfunktion, multiplen Wirkungen auf das Gerinnungs- bzw. Komplementsystem bis hin zur endokrinen Dysfunktion. Neben der stressinduzierten Produktion von vasoaktiven Mediatoren wie Stickstoffmonoxid (NO), Kohlenmonoxid (CO) und Endothelin-1 kommt es parallel zur Bildung von leukozytären Adhäsionsmolekülen. Diese haben eine Akkumulation von Leukozyten zur Folge, die mit der Produktion von zytotoxischen Mediatoren und der endothelialen Migration stark zur Störung der Zellintegrität des Endothels mit anschließendem kapillären Leck und Umverteilung des intravasalen Volumens ins Interstitium beitragen [18-20]. Das daraus resultierende interstitielle Ödem begünstigt aufgrund der verlängerten Diffusionsstrecke die Hypoxie des umliegenden Gewebes und der Organe. Neben der Ödembildung stellt die inadäquate Interaktion von Gerinnungssystem und ablaufender Entzündung den Organismus vor ein weiteres großes Problem. Die physiologische Balance zwischen pro- und antithrombotischen Komponenten wird während der ablaufenden Inflammation insoweit gestört, dass es zu einer inadäquaten Hämostaseaktivierung kommt [21]. Das im Plasma vorliegende Prothrombin wird in unphysiologischem Maße zu Thrombin überführt. Thrombin ist in der

Gerinnungskaskade für die Umsetzung von Fibrinogen zu Fibrin verantwortlich, das zur Bildung von Mikrogerinnseln in der Endstrombahn dient. Das Vollbild der Dysregulation des plasmatischen- und thrombozytären Gerinnungssystems, der Fibrinolyse sowie der endothelialen Integrität mündet in der gefürchteten disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) [22].

Eine Invasion von Pathogenen aus dem Gastrointestinaltrakt stellt die Intensivmedizin vor weitere Probleme in der Therapie der Sepsis. Die durch Ischämie und Minderperfusion gestörte mukosale Barrierefunktion der Darmmukosa ist für die Migration von physiologisch vorkommenden Bakterien des Gastrointestinaltraktes in die Blutbahn und das Lymphsystem verantwortlich [23].

Neben allgemeinen intensivmedizinischen Maßnahmen wie der frühen und adäquaten Kreislauf- und Volumentherapie ist bei der Sepsis eine schnelle und kalkulierte antibiotische Therapie essenziell und kann die Mortalität drastisch senken [12].

Die epidemiologische Studie von Martin und Mitarbeitern zeigte ein vielfältiges Erregerspektrum (siehe Tabelle 1.) [24]. Gram-positive sowie gram-negative Bakterien sind die häufigsten Erreger. Allerdings konnte auch gezeigt werden, dass ferner Pilzinfektionen immer mehr an Bedeutung als Erreger der Sepsis gewinnen [25].

Tabelle 1. Erregerspektrum nach Brun-Bruissson [24]

gram-positive Bakterien 45 %	gram-negative Bakterien 44 %
Staphylococcus aureus 19 %	Escherichia coli 22 %
Streptococcus pneumoniae 9 %	Pseudomonas aeruginosa 6 %
koag. neg. Staphylokokken 6 %	Klebsiella 5 %
β-hämolysierende Streptococcen 4 %	Enterobacter 4 %
Enterokokken 3 %	

2.3 Nucleated Red Blood Cells (NRBC)

2.3.1 Definition NRBC

Die NRBC (Erythroblasten, syn.: Nucleated Red Blood Cells) stellen die noch kernhaltigen Vorläuferstufen der reifen Erythrozyten dar. Ausgehend von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen (PHSC) entwickeln sie sich über morphologisch unterschiedliche Zwischenstufen im Knochenmark.

Ein physiologisches Auftreten dieser Zellen im peripheren Blut kommt nur während der Fetal- bzw. Neugeborenenperiode und vereinzelt in der Schwangerschaft vor [26]. Stimuliert durch eine Vielzahl von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, differenzieren sich die pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen zu so genannten CFU-GEMM (Colony-forming-unit granulocyte, erythrocyte, monocyte, macrophage), welche die Basis der erythropoetischen Differenzierungsreihe darstellen (Abbildung 2). Durch funktionelle und morphologische Entwicklung über weitere Zwischenstufen reifen die Zellen zu Proerythroblasten und Erythroblasten heran, die nach der Zellkernausstoßung die direkten Erythrozytenvorstufen bilden, die Retikulozyten. Über die Knochenmarksinusoide verlassen die Retikulozyten ihren Entstehungsort [27].

2.3.2 Die Regulation der Erythropoese

Die Neubildung und Differenzierung der erythropoetischen Zellreihe unterliegen dem Einfluss verschiedener hämatopoetischer Wachstumsfaktoren (HGFs). Sie sind für die Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen verantwortlich [28]. Neben den spezifischen Wachstumsfaktoren (*engl.* CSF= colony-stimulating-Factor) wie z.B. EPO, G-CSF, GM-CSF, SCF spielen auch hier die Zytokine bei der Interaktion der Zellen eine große Rolle. Insbesondere die Interleukine sind an der Kommunikation der Zellen beteiligt [29].

Sie regulieren die Zellaktivität, -proliferation und -differenzierung.

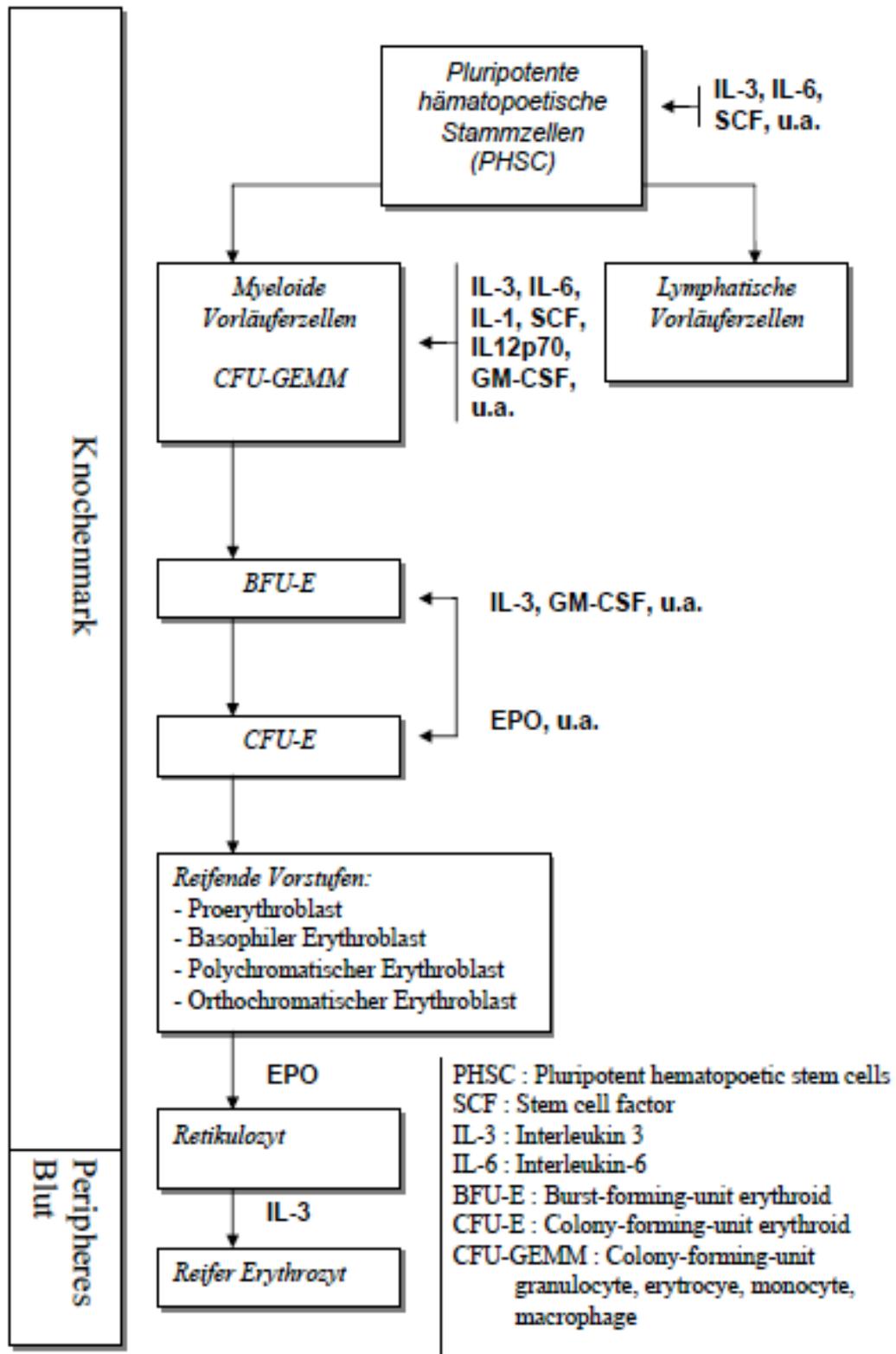


Abbildung 2. Schema der Erythropoese unter dem Einfluss von Wachstumsfaktoren und Zytokinen [30], EPO=Erythropoetin, IL=Interleukin,PHSC=Pluripotent hematopoetic stem cells, GM-CSF=granulocyte macrophage-colony stimulating factor,

2.3.3 Prognostische Bedeutung der NRBC

Das Auftreten von NRBC ist nur während der Fetal- oder Neugeborenenzeit physiologisch. Vereinzelt können auch in der Schwangerschaft kindliche Erythroblasten im Blut der Mutter detektiert werden [26]. Ansonsten ist die Gegenwart von NRBC im Erwachsenenalter regelmäßig mit einem pathologischen Prozess vergesellschaftet. Erstbeschreiber dieser Tatsache waren Da Costa und Mitarbeiter, die das Auftreten von Erythroblasten im Zusammenhang mit Eisenmangelanämien beschrieben [31]. Im Laufe des Jahrhunderts ist es mehreren Forschungsgruppen gelungen, das pathologische Auftreten von Erythroblasten im Rahmen verschiedener Erkrankungen wie z.B. hämatologischen Erkrankungen und Herzinsuffizienz nachzuweisen. 1954 bestätigte die Studie von Schwartz und Stansbury die schlechte Prognose beim Auftreten von Erythroblasten. Sie untersuchten insgesamt 1496 Patienten mit nachgewiesenen Erythroblasten und konnten dabei eine Mortalität von annähernd 50 % feststellen [32]. In jüngster Zeit wurde mithilfe der Durchflusszytometrie die Diagnostik der NRBC-Präsenz stark vereinfacht.. Dennoch konnten die neusten Studien die schlechte Prognose beim Auftreten von Erythroblasten nur bestätigen. In der Arbeit von 2006 zeigten Stachon und Mitarbeiter an einem großen Patientenkollektiv, dass die Krankenhausmortalität bei NRBC-positiven Patienten bei 42 % lag. Konnten mehr als 200/ μ l Erythroblasten gemessen werden, lag die Mortalität bei 100 % [33]. Bisher sind noch keine ausreichenden Erkenntnisse vorhanden, wodurch das Auftreten von Erythroblasten begründet ist. Knochenmarkhypoxie bzw. eine Barrierestörung im Bereich des Knochenmarks wurden diskutiert, konnten aber bisher nicht nachgewiesen werden [34].

2.4 Scoring-Systeme in der Intensivmedizin

Ein Scoring-System ist ein Punktsommensystem, mit dem komplexe Zusammenhänge – wie in diesem Fall der Schweregrad einer Erkrankung – vereinfacht und vergleichbar dargestellt werden können.

Jeder in diesem Scoring-System dargestellte Parameter erhält für entsprechende Grenzwerte und gewichtet für seine Wertigkeit eine festgelegte Punktzahl. Die Summe der Punktwerte der einzelnen Parameter ergibt dann den Gesamt-Score. Innerhalb der letzten dreißig Jahre hat die Bedeutung dieser Systeme in der Intensivmedizin immer mehr zugenommen.

Die Charakterisierung von kritisch kranken Patienten mithilfe von Scoring-Systemen hat nicht nur einen deskriptiven und prognostischen Sinn. Sie dient auch dazu, therapeutisch-interventionelle Möglichkeiten zu prüfen und zu beurteilen, damit gegebenenfalls frühzeitig eine Therapieumstellung vorgenommen werden kann. Im Jahr 1981 stellten Knaus und Mitarbeiter das erste intensivmedizinisch relevante Scoring-System, den „Acute Physiology and Chronic Health Evaluation“ (APACHE) vor [35].

Insgesamt flossen 34 Parameter in diese Version des APACHE-Scores mit ein, was sich in der klinischen Nutzung als nicht praktikabel zeigte. Deshalb wurde diese Verfahrensweise bereits 1985 durch eine reduzierte Form erneuert: APACHE II [36]. Die Arbeitsgruppe um Le Gall veröffentlichte 1984 den Simplified Acute Physiology Score (SAPS), der eine Alternative zum APACHE darstellen sollte [37]. Auch bei diesem Score wurde zeitnah eine revidierte und überarbeitete Version publiziert – der SAPS II [38].

In einer multizentrischen und multinationalen Studie mit insgesamt über 14.000 Patienten konnte die Überlegenheit der vereinfachten Neuversionen hinsichtlich ihrer Diskriminierungsfähigkeit bezüglich der Erkrankungsschwere bestätigt werden [39]. Mittlerweile sind der APACHE III und der SAPS II etablierte prognostische Scoresysteme, die eine breite Anwendung im klinischen Alltag gefunden haben. Sie werden innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme auf die Intensivstation erfasst und geben einen Ausblick auf Mortalität und Prognose des Patienten. Erst Mitte der neunziger Jahre wurde von der Arbeitsgruppe um Vincent ein Scoring-System veröffentlicht, das dazu dient, die Morbidität eines

Patienten zu verifizieren und eine deskriptive Komponente besitzt, der „Sepsis-related Organ Failure Assessment“ [40]. Er ist in der Lage, den Schweregrad einer Organdysfunktion zu erfassen und täglich neu zu beurteilen [41].

2.4.1 Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II)

Der „Simplified Acute Physiology Score II“ (s. Anhang) dient der Abschätzung der Mortalität bei Aufnahme auf die Intensivstation. Eine große multizentrische Studie von Le Gall und Mitarbeitern bestätigte, dass der SAPS II trotz seiner reduzierten und vereinfachten Datenerhebung verlässliche Ergebnisse in Bezug auf die Risikoabschätzung erbracht hat [38]. Der SAPS II beinhaltet insgesamt 17 verschiedene Variablen: 12 physiologische Parameter, Alter, Aufnahmeart (elektiv-OP, Not-OP, internistisch) und drei allgemeine Grunderkrankungen (metastasierendes Tumorleiden, AIDS, hämatologisches Malignom). Die Parameter werden innerhalb der ersten 24 Stunden nach Aufnahme erfasst, wobei nur der jeweils am stärksten pathologisch veränderte Wert in die Gesamtberechnung mit einfließt. Je nach Gewichtung werden pro Variable 0-26 Punkte vergeben. Insgesamt kann ein Punktwert von maximal 126 erreicht werden. Zur Vigilanzbeurteilung ist in den SAPS II der Glasgow Coma Scale integriert.

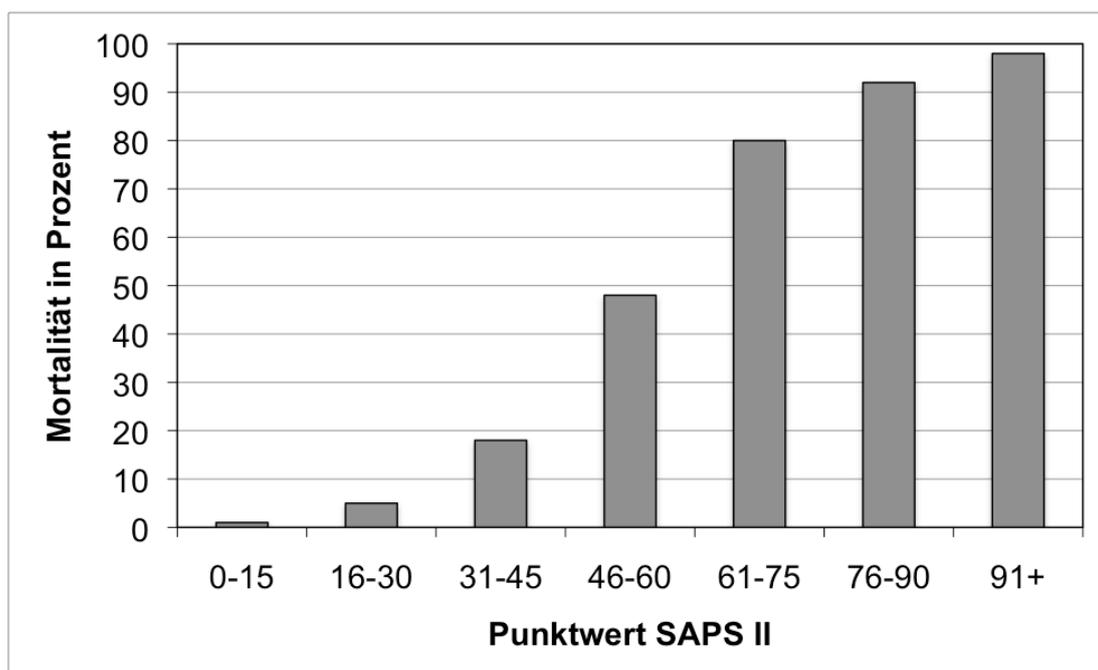


Abbildung 3. Mortalität in % in Abhängigkeit vom SAPS (Simplified Acute Physiology Score) [38]

Beim GCS wird immer die bestmögliche Antwort des Patienten beurteilt. Augenöffnen, verbale und motorische Antwort fließen in die Beurteilung mit ein. Im Idealfall kann die Maximalpunktzahl von 15 Punkten erreicht werden [42]. Eine Tabelle der Glasgow Coma Skala befindet sich im Anhang.

2.4.2 *Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)*

Während die bestehenden prediktiven Scoring-Systeme wie der APACHE II oder der SAPS II zur initialen Abschätzung des Mortalitätsrisikos bei kritisch kranken Patienten dienen, wurde der SOFA entwickelt, um auch die Morbidität im Verlauf zu bewerten. Der SOFA ist ein deskriptives, organbezogenes Scoring-System, das jeden Tag neu bestimmt werden sollte und somit ein objektives Bild der Erkrankungsschwere wiedergibt bzw. den Verlauf und Komplikationen erfassbar machen soll [40].

Insgesamt werden beim SOFA-Score sechs Organsysteme erfasst: Niere, Leber, Lunge, Herz-, Kreislauf- und das Gerinnungssystem. Für jedes Organsystem können anhand von Labor- und Funktionsparametern jeweils 0-4 Punkte vergeben werden, wobei 0 für eine normale Funktion steht und ansteigend bis zu 4 Punkte für eine eingeschränkte Funktion bzw. den Einsatz eines Organersatzverfahrens vergeben werden. Vincent und Mitarbeiter verifizierten 1998 den SOFA-Score an einem großen Patientenkollektiv. Die Studie zeigte, dass die Mortalität deutlich mit der Höhe der Scorewerte positiv korrelierte [6]. Auch die Studie von Ferreira und Mitarbeitern 2001 bestätigte diesen Zusammenhang.

Bei einem initialen SOFA-Score von bis zu 9 Punkten lag die Mortalität noch bei weniger als 33 %, bei einem initialen Score von über 11 Punkten stieg sie auf fast 95 % an [43]. Bei traumatologischen Patienten erwies sich die regelmäßige und wiederholte Anwendung des SOFA-Scores als hilfreich im Hinblick auf die Zuordnung von Patienten zu Hochrisikogruppen zur Risikoabschätzung in Bezug auf einen verlängerten Aufenthalt auf der Intensivtherapiestation [44].

Ein SOFA-Erhebungsbogen befindet sich im Anhang.

2.5 Immunmonitoring und neue Infektionsparameter

Die frühe Diagnosestellung und die umgehende Einleitung therapeutischer und supportiver Maßnahmen ist für die Senkung der Letalität der Sepsis essenziell und kann der Entwicklung einer schwer wiegenden Organdysfunktion entgegenwirken [45]. Im Jahr 2001 wurde auf der SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS₁ International Sepsis Definitions Conference eine Bilanz der vergangenen 10 Jahre gezogen, in denen auf der Grundlage oben angeführten klinischen Definitionen therapiert wurde. Das Ziel bestand darin, diese Definitionen hinsichtlich klinischer Nützlichkeit und unter dem Eindruck erfolgter Fortschritte im theoretischen Verständnis der Krankheitsbilder zu überprüfen und gegebenenfalls zu novellieren. Es wurde festgestellt, dass die Einteilung auch 10 Jahre nach dem Bericht der Consensus Conference prinzipiell sinnvoll sei, vor allem die Definitionen für Sepsis, schwere Sepsis und septischen Schock entsprächen nach wie vor der klinischen Realität [9]. Die Kombination aus dem klinischen Bild anhand von Vitalparametern, laborchemischen Nachweisen sowie hämodynamischen Daten und Organfunktionen stellen zurzeit die Grundlage für die Diagnosestellung der Sepsis dar. Diese (?) in ihrer Gesamtheit sehr sensitiven Parameter des SIRS (hier fehlt der Zusammenhang; vorher geht es ja um Sepsis) lassen jedoch keine Differenzierung zwischen einer nichtinfektiösen Entzündungsreaktion und einem infektiösen Geschehen zu [46].

Im klinischen Alltag dienen neben den Hauptsymptomen der Infektion, dem Fieber und der Reduzierung des Allgemeinzustandes vor allem die Bestimmung des Blutbildes (Leukozytenzahl) und das C-reaktive Protein als diagnostische Standardparameter. Neuere Parameter wie das Procalcitonin haben sich als sensitiver Infektionsparameter durchgesetzt [47, 48]. Parameter wie z.B. die CD64-Expression auf peripheren Leukozyten stellen sich in Forschungsvorhaben auch als spezifischer und sensitiver heraus. Jedoch sind diese Tests aufwändig und kostenintensiv. Daher haben sie noch nicht den Weg in die klinischen Diagnostikstandards gefunden [49, 50]. Der perfekte Sepsis-Marker sollte in der Lage sein, frühzeitig die Diagnose zu stellen, eine Differenzierung zwischen infektiösen und nicht infektiösen Ursachen zu erlauben sowie zwischen viralen und bakteriellen Ursachen zu unterscheiden. Gleichzeitig sollte er die antimikrobiellen und supportiven Therapien widerspiegeln und deren Erfolg oder Misserfolg im Verlauf bewerten [48].

2.5.1 C-reaktives Protein

Das C-reaktive Protein zählt gemeinsam mit Caeruloplasmin, Fibrinogen, Haptoglobin, Ferritin und Präalbumin zur Gruppe der akuten Phase-Proteine, die von den Hepatozyten nach Stimulation durch inflammatorische Mediatoren wie z.B. dem IL-6 freigesetzt werden. Bei gesunden Probanden liegen die Plasmaspiegel bei $< 5\text{mg/L}$. Aufgrund seiner hohen Sensitivität und der geringen Kosten hat sich das CRP als Marker für eine im Organismus ablaufende, entzündliche Immunantwort bewährt [51].

Als alleiniger sepsisspezifischer Marker kann das CRP jedoch nicht dienen. Mehrere Studien zeigten, dass die CRP-Plasmaspiegel nicht mit der Schwere einer Infektion korrelieren und erst nach 48 Stunden ihre Höchstwerte erreichen [52]. Die Halbwertszeit vom C-reaktiven Protein liegt bei 19 Stunden. Auch im Sinne der prädiktiven Wertigkeit konnten die CRP-Plasmaspiegel über die Schwere und Ursache einer Infektion sowie das Überleben keine verlässlichen Daten liefern [53, 54].

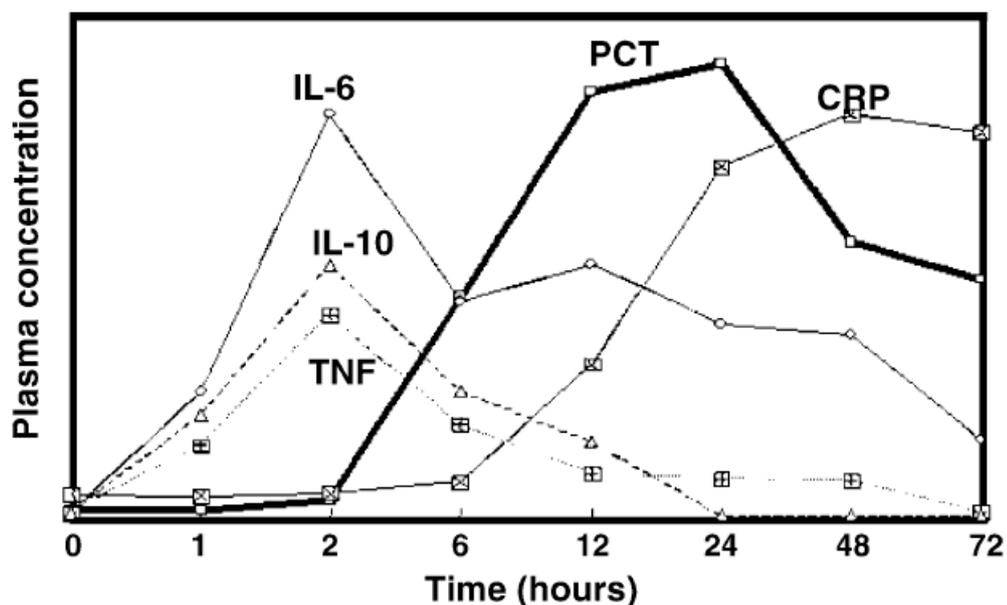


Abbildung 4. Zeitliche Kinetik der Entzündungsparameter im Vergleich nach Endotoxin-Exposition [48]

2.5.2 Interleukin-6

Das IL-6 gehört zur Gruppe der Zytokine. Zytokine sind Glykoproteine, die im Rahmen einer Immunantwort als Botenstoffe von diversen Zellen des Organismus – u.a. Monozyten, Makrophagen, Lymphozyten und Endothelzellen – produziert und freigesetzt werden. Ihre Eigenschaften als Mediatoren sind vielfältig und können verschiedene Reaktionen induzieren. IL-6 induziert immunologisch die Differenzierung von B-Lymphozyten zu Immunglobulin sezernierenden Plasmazellen und steigert die Immunglobulinsynthese. Bei T-Lymphozyten dient IL-6 als Aktivierungsfaktor und steigert die Differenzierung und das Wachstum unreifer T-Lymphozyten zu zytotoxischen Zellen. Neben der Immunantwort beeinflusst IL-6 ebenfalls die Erythropoese. IL-6 induziert die Proliferation und Differenzierung von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen. Die G_0 -Phase des Zellzyklus wird verkürzt und erhöht den Übergang von Stammzellen aus der inaktiven G_0 -Phase in die aktive G_1 -Phase [55]. Auf diese Weise werden Proliferation und Differenzierung der aktivierten pluripotenten Stammzellen gefördert. Ob diese Tatsachen Einfluss auf das Auftreten von NRBC bei Sepsis haben, ist denkbar, jedoch bisher ungeklärt. Physiologischerweise liegt der Plasmaspiegel von Interleukin-6 bei ca. 1 pg/ml, kann aber im Rahmen der Immunantwort auf Infektion oder Trauma auf das über 10000-fache ansteigen. Eine Studie von Reinhart und Mitarbeitern zeigte, dass massiv erhöhte IL-6 Plasmaspiegel mit dem Auftreten von Organdysfunktionen und einer schlechten Prognose korrelierten [56]. Allerdings können die IL-6 Plasmaspiegel auch im Rahmen von Autoimmunerkrankungen, schwerem Trauma, Operationen und viralen Infektionen stark erhöht sein, so dass das IL-6 als diagnostischer Marker für eine Sepsis nicht infrage kommt und ähnlich dem CRP einen vergleichsweise unspezifischen Inflammationsparameter darstellt.

Tabelle 2. Übersicht über pro- und antiinflammatorische Mediatoren

Aktivierung durch mikrobielle Produkte	proinflammatorisch	Antiinflammatorisch
Neutrophile	IL-4, IL-10	
Monozyten/ Makrophagen	TNF-a, IL-1, IL-2, IL-6 , IL-8	sTNFr, IL-1Ra
Lymphozyten	Interferon-gamma	TGF-b
Thrombozyten	NO, PAF	BPI, Defensine
Leukotriene	Serotonin	
Komplementsystem	C5a, C3a	
Gerinnungssystem	Faktor XII	

*NO = Stickoxid, PAF = Plättchen-aktivierender Faktor, IL-1Ra = IL-1-Rezeptor-Antagonist,
sTNFr = löslicher TNF-Rezeptor, TGF-b = transforming growth factor-b,
BPI = bacterial/permeability-increasing protein, sIL-2r = löslicher IL-2-Rezeptor*

3 Material und Methoden

3.1 Studienprotokoll

Nach Genehmigung durch die Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg wurden insgesamt 58 konsekutive Patienten der operativen Intensivstationen des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf nach entsprechender Aufklärung und Einwilligung in diese Studie einbezogen. Einschlusskriterien waren ein zu erwartender Intensivaufenthalt von mindestens 72 Stunden und ein Alter zwischen 18 und 90 Jahren. Ausschlusskriterien waren:

Z.n.Organtransplantation, hämatologische Erkrankungen oder eine immunsuppressive Therapie, sowie eine Grunderkrankung mit infauster Prognose. Für alle Patienten wurde in den ersten 24 Stunden des Aufenthaltes auf der Intensivstation der Simplified Acute Physiology Score (SAPSII) zur Beurteilung der Erkrankungsschwere erhoben [38]. Am Aufnahmetag sowie im Verlauf wurde ebenfalls täglich der Scorewert des Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) für den Patienten ermittelt, um so den Verlauf evtl. Organinsuffizienzen zu dokumentieren [40]. Täglich wurden neben dem Differenzialblutbild entsprechende Parameter des Immunmonitorings wie das C-reaktive Protein, das Interleukin-6 sowie die Grundlage dieser Studie, die Nucleated Red Blood Cells, bestimmt. Ziel war es, das Auftreten von NRBC im peripheren Blut bei Patienten mit einer in Bezug auf das Mortalitätsrisiko zu untersuchen. Entsprechend wurden die ICU-Mortalität, die 28-Tage-Mortalität sowie die Krankenhausmortalität erfasst. Die Einteilung der eingeschlossenen Patienten in die Gruppen „Non-Sepsis“ und „Sepsis“ erfolgte durch erfahrene Intensivmediziner, die sich an den Sepsiskriterien der ACCP/SCCM Konsensus-Konferenz orientierten [8, 50, 57]. Die einteilenden Ärzte waren bzgl. der Ergebnisse der durchflusszytometrischen Untersuchungen während des Studienzeitraums verblindet.

Die folgende Tabelle zeigt die Gruppeneinteilung sowie Patientenzahlen.

Tabelle 3. Gruppeneinteilung des Patientenkollektivs

Gruppe 1	Non-Sepsis	Patienten erfüllen bei Aufnahme nicht die Sepsiskriterien (n=19)
Gruppe 2	Sepsis	Patienten erfüllen bei Aufnahme die Sepsiskriterien (n=39)

3.2 Messung der NRBC

Bei dem Sysmex XE-2100 handelt es sich um einen vollautomatischen, hämatologischen Analysator nach dem Prinzip der Durchflusszytometrie. Er bestimmt bis zu 30 Parameter, darunter eine komplette 5-Kanal-Leukozytendifferenzierung, Retikulozytenzahl und NRBC-Zahl. Die maximale Leistungskapazität liegt bei 150 Probenanalysen pro Stunde. Bei der automatischen Differenzierung am Sysmex XE-2100 werden folgende Zellen differenziert: neutrophile, eosinophile sowie basophile Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten. Zusätzlich unterscheidet der Sysmex XE-2100 die hämatopoetische Zellreihe mit Erythroblasten (NRBC), Retikulozyten und die Normoblasten. Die Vorteile dieses Verfahrens liegen in der Sensitivität und Praktikabilität. Es konnte gezeigt werden, dass NRBC-Konzentrationen unter 100/ μ l zuverlässig und zeiteffizient mit dem Sysmex XE-2100 gemessen werden konnten [58, 59]. Im Vergleich mit dem klassischen Mikroskopieren eines peripheren Blutausstriches ist es, abgesehen von dem höheren personellen und zeitlichen Aufwand, schwierig, NRBC-Konzentrationen unter 200/ μ l manuell zu erfassen [59].

Unter dem Begriff der „Zytometrie“ versteht man die Charakterisierung und Differenzierung von Zellen mithilfe physiko-chemischer Methoden. Die Durchflusszytometrie beschreibt die Messung von Zellen und Partikeln innerhalb einer Strömung. Mittels eines Laserstrahls können einzelne Zellen, die in einer feinen Strömung an diesem vorbeigeführt werden, bezüglich ihrer optischen Informationen charakterisiert werden. Diese gewonnenen Informationen sind Streulicht- oder Fluoreszenzlichtsignale, die eine genaue und spezifische Klassifizierung der Zellen erlauben.

3.2.1 Messprinzip der Durchflusszytometrie

Bei einem Durchflusszytometer handelt es sich um ein optisches Messsystem. Tritt ein Objekt in den optischen Licht- bzw. Laserstrahl ein, so ändert das Licht seine Orientierung. Dieses Phänomen nennt man Streulicht. Es kann in den Winkeln von 0° bis 360° auftreten. Mit der Detektion dieses Streulichts kann man Informationen über die Eigenschaften wie z.B. die Größe, Oberflächenbeschaffenheit sowie intrazelluläre Eigenschaften einer Zelle bzw. eines Objekts erhalten. Zu differenzieren ist zwischen dem Vorwärts- und dem Seitwärtsstreulicht. Das Vorwärtsstreulicht, auch als Forward Angle Light Scatter (FSC) bezeichnet, dient der Bestimmung der Querschnittsfläche, also der Größe eines Objektes sowie dem Refraktionsindex. Das Seitwärtsstreulicht, auch Side Angle Light Scatter (SALC) bezeichnet, kann Informationen über den Inhalt einer Zelle bzw. eines zu detektierenden Objektes liefern [60]. Die Kombination dieser beiden Messgrößen kann die zu detektierenden Zellen bzw. Objekte in Bezug auf ihre Größe, intrazelluläre, strukturelle Komplexität (Form, Größe und Dichte des Zellkerns, zytoplasmatische Granularität) analysieren.

3.2.2 Fluoreszenzfarbstoffe

Fluoreszenzfarbstoffe haben die Eigenschaft, Licht einer definierten Wellenlänge zu absorbieren. So kann man sich die Messung der Fluoreszenzintensität zu Nutze machen, um Informationen über den Nukleinsäuregehalt einer Zelle bzw. einer Zellsuspension zu erlangen. Diese Informationen werden in dieser Studie über die Anfärbbarkeit gewonnen. Je nach Farbstoff können unterschiedliche Eigenschaften gemessen werden.

Bei der Messung wird jede einzelne Zelle in dem Durchflusszytometer angesaugt und in einem hydrodynamischen Strom an einer Lichtquelle vorbeigeführt, in diesem Fall handelt es sich um einen Halbleiterlaser mit einer Wellenlänge von 633 nm. Damit wird jede Zelle durch das optische Detektionssystem erfasst und hinsichtlich seiner Streulicht- und Fluoreszenzemissionen quantifiziert. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt in Punktwolkendiagrammen (Scattergrammen). Dabei repräsentiert jeder einzelne Punkt im Scattergramm die Messdaten einer einzelnen Zelle. Diese Punkte können dann zu Populationen zusammengefasst und gezählt werden. Beim Sysmex XE-2100 werden zur Fluoreszenzaktivitätsmessung so genannte Polymethine verwendet. Ihre Vorteile

bestehen darin, dass sie in der Lage sind, in Zellen einzudringen und dort entsprechende Zellorganellen anzufärben. Sie fluoreszieren erst, wenn sie eine Verbindung eingetreten sind. Aufgrund ihrer positiven Ladung binden sie leicht an Nukleinsäuren [61].

Durchflusszytometer:

Automated Hematology Analyzer XE-2100, SYSMEX, Kobe, Japan

Datenverarbeitungssystem XE-IG Master Software

Blutproben in 2.8 mL K₃EDTA Monovetten (Sarstedt, Germany)

Reagent System:

1. WBC/BASO-Kanal:

STROMATOLYSER-FB (II)

2. DIFF-Kanal:

In diesem Kanal wird ein 4-Part-Differenzial (Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile) erstellt.

3. STROMATOLYSER-4DL

4. STROMATOLYSER-4DS mit Polymethinfarbstoff

5. RET-Kanal:

PLT-fl Zählwert für Thrombozyten

RET-SEARCH II (Diluent) und (Staining Solution) mit

Polymethin-farbstoff: Trennung der Retikulozyten von Erythrozyten über den Unterschied im RNS-Gehalt

6. IMI-Kanal:

STROMATOLYSER-IM (polyoxyethylene-series non-ionic surfactant, sulfur-containing amino acid, cationic surfactant)

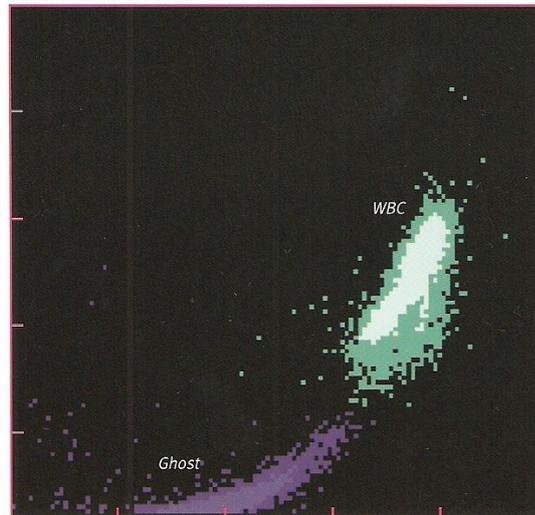


Abbildung 5. Darstellung eines XE-Scattergramms einer NRBC-negativen Patientenprobe
WBC=White Blood Cell Count, Quelle: Sysmex Europe GmbH

3.2.3 Messung der NRBC

Zur Bestimmung der Nucleated Red Blood Cells werden sowohl die Zellmembranen der NRBC als auch die der Erythrozyten durch das Lyse-Reagenz lysiert. Andere Zellen sind von der Lysierung nicht betroffen. Die nun frei liegenden Zellorganellen, insbesondere die Nukleinsäuren der Erythroblasten, können nun mit dem Färbereagenz reagieren und detektiert werden. Daher ist eine Differenzierung zwischen Nucleated Red Blood Cells und Zellen der Immunabwehr möglich [62].

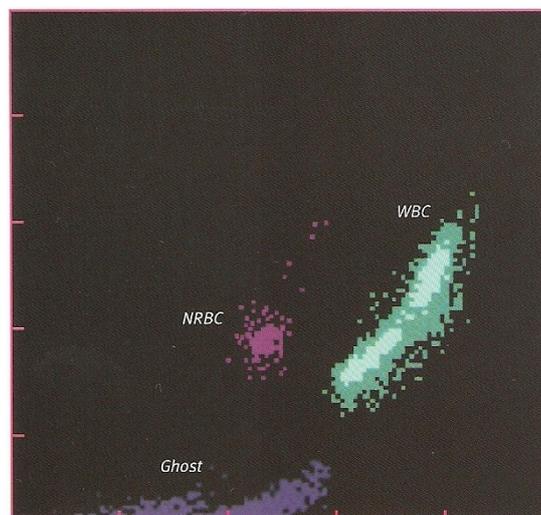


Abbildung 6. NRBC positive Patientenprobe mit sichtbarer NRBC-Population,
WBC= White Blood Cell Count, NRBC= Nucleated Red Blood Cells
Quelle: Sysmex Europe GmbH

3.3 Statistische Methoden

Die Datenerfassung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm „Excel“ der Firma Microsoft, Richmond, USA. Für alle Daten wurden Mittelwert, Standardabweichung und der Median berechnet. Für die Analyse wurden die Patienten in zwei Gruppen, Patienten ohne Sepsis und Sepsispatienten, eingeteilt. Da der Beobachtungszeitraum eines einzelnen Patienten ggf. bis zu 21 Tagen betragen konnte, wurden zur statistischen Auswertung die einzelnen Tage zu Tagesgruppen zusammengefasst, die sich wie folgt zusammensetzen:

- Tagesgruppe 1: MW der Tage 1,2,
- Tagesgruppe 2: MW der Tage 3,4,5,
- Tagesgruppe 3: MW der Tage 6,7,8,9
- Tagesgruppe 4: MW der Tage 10,11,12,13,14
- Tagesgruppe 5: MW der Tage 15,16,17,18,19,20,21

Die statistische Auswertung der Daten wurde mithilfe von SPSS (Statistical Package for the Social Science; V.11.00, Chicago, USA) durchgeführt. Zur Testung der Normalverteilung wurde der Test nach Kolmogorov-Smirnov durchgeführt. Dabei gilt ein $p > 0,05$ als nicht signifikant und die Werte damit als normalverteilt. Normalverteilte Werte (wie z.B. Alter, SAPS, Aufenthaltsdauer) wurden auf ihre Signifikanz mit dem Student T-Test überprüft. Zum Vergleich der unabhängigen, nicht parametrischen Stichproben wurde der U-Test von Mann, Whitney und Wilcoxon durchgeführt..

Des Weiteren erfolgte eine ROC-Analyse (Receiver- Operator Characteristic) der Daten im Hinblick auf die ICU-Mortalität bzw. Gruppenzugehörigkeit. Die ROC-Analyse ist eine grafische Darstellung, in der man die Sensitivität gegen die Spezifität aufträgt. Ein Maß für die Qualität eines diagnostischen Parameters bzw. Markers ist die Fläche (Area under the Curve, AUC) unter der ROC-Kurve. Eine klinisch bedeutsame Spezifität und Sensitivität kann bei einer AUC $> 0,7$ angenommen werden. Die Erhebung und Berechnung der Scorewerte erfolgte mit dem Hamburg Intensive Care Scoring Tool (HICAST[®]):

4 Ergebnisse

4.1 Demografie

Es konnten 58 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Insgesamt wurden 40 männliche Patienten (69 %) und 18 weibliche Patienten (31 %) untersucht. Das Alter der Patientengruppe lag im Mittel bei 54,2 Jahren, wobei der jüngste Patient 22 und der älteste 88 Patient Jahre alt waren. Abbildung 7 gibt einen Überblick über die Anzahl der Patienten und ihre Geschlechts- und Altersverteilung.

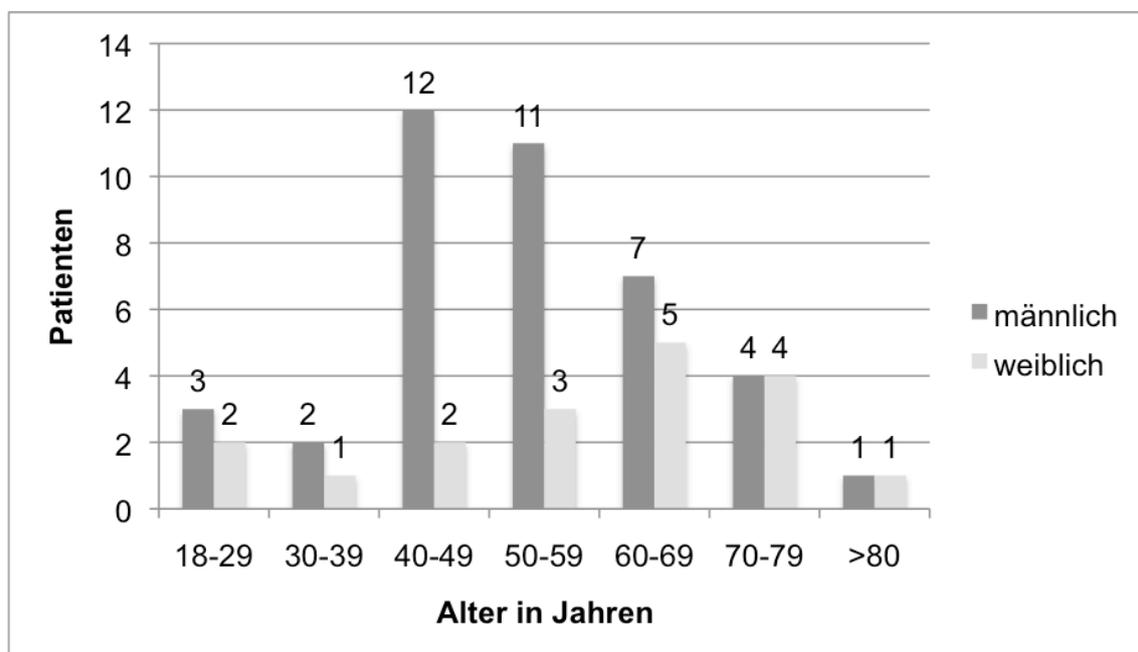


Abbildung 7. Altersverteilung des Patientenkollektivs

Die Mortalitätsrate des Intensiv Aufenthaltes (ICU-Mortalität) lag bei 27,6 % (16/58); die 28-Tage-Mortalität bei 19 % (11/58) und die Krankenhausmortalität bei 29,3 % (17/58). Da es sich um eine ausschließlich auf der Intensivstation durchgeführte Studie handelt, wurde die statistische Auswertung in Bezug auf die ICU-Mortalität ausgerichtet. Die nachfolgende Tabelle gibt einen Überblick über die demografischen Daten des Gesamtkollektivs im Hinblick auf die Intensivmortalität.

Tabelle 4. Demografie Patientenkollektivs in Bezug auf die ICU-Mortalität

	Überlebende (n=42)	Verstorbene (n=16)	Gesamt (n=58)	Signifikanz
Alter	54,1±14,5	54,2±16,7	54,2±15,6	n.s.*
Geschlecht (♀/♂)	15/27	5/11	20/38	n.s.*
Aufenthalt				
Median	18,5	21,5	20	n.s.**
CI	18,2-26,6	15,1-37,2	16,65-32	
Max	54	72	72	
Min	3	4	3	

ICU-Mortalität= Intensiv-Mortalität, n.s.=nicht signifikant, *= Test nach Mann-Whitney/ **=T-Test nach Student, Aufenthalt in Tagen

Wie in Material und Methoden beschrieben, erfolgte die Einteilung des Patientenkollektivs gemäß den Sepsis-Kriterien der ACCP/SCCM-Kriterien in eine Non-Sepsis-Gruppe und eine Sepsisgruppe. Tabelle 5 zeigt die demografischen Daten der Gruppen im Vergleich. Ebenfalls wurde innerhalb der Gruppen das Alter und die Aufenthaltsdauer in Bezug auf die ICU-Mortalität auf ihre Signifikanz hin geprüft. Es konnte kein Zusammenhang festgestellt werden.

Tabelle 5. Demografie des Patientenkollektivs nach Gruppen

	Non-Sepsis	Sepsis
Alter in Jahren	p=0,46*	p=0,63*
MW ± SD	47,4 ±16,1	57,3 ±13,5
Max	88	79
Min	22	26
Geschlecht (♀/♂)	4/15	14/25
ICU-Mortalität		
Überlebende	14	28
Verstorbene	5	11
Aufenthalt	p=0,38*	p=0,13*
Median	12	21
CI	9,6-22,3	22-32,2
Max	54	72
Min	3	5

MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, *=T-Test nach Student

Abbildung 8 zeigt die Aufnahmediagnosen der Non-Sepsis-Gruppe. Den Hauptanteil mit 52,7 % (10/19) bildet die Diagnose Polytrauma, gefolgt von Neoplasien mit 31,6 % (6/19).

Diagnosen der Non-Sepsis Patienten

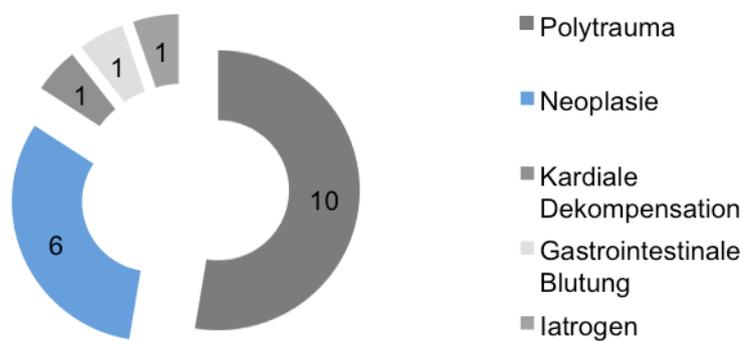


Abbildung 8. Diagnosen der Non-Sepsis-Patienten

Wie zu erwarten war, bilden in der Sepsisgruppe Diagnosen mit septischen Krankheitsbildern den Hauptanteil, führend die Peritonitis mit 28,2 % (11/39), gefolgt von Neoplasien, Pankreatitis, Ileus und Polytrauma mit je 12,8 % (5/39). Abbildung 9 zeigt die Hauptdiagnosen der Sepsis-Patienten mit ihren entsprechenden Fallzahlen.

Diagnosen der Sepsis-Patienten

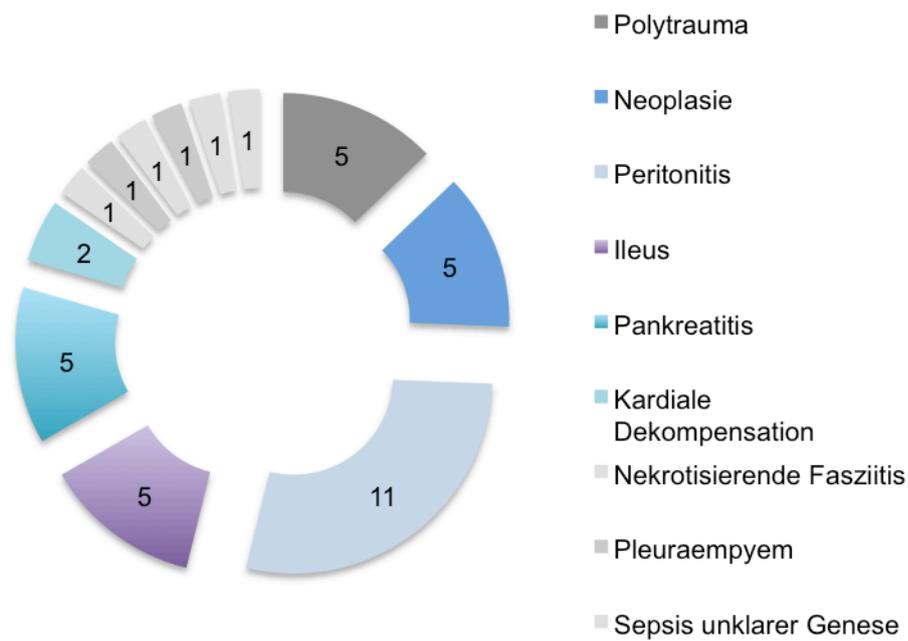


Abbildung 9. Diagnosen der Sepsis-Patienten

4.2 Analyse der Verlaufsparemeter

Entsprechend der ACCP/SCCM-Diagnosekriterien der Sepsis – modifiziert nach den 2005 novellierten S2-Leitlinien der Deutschen Sepsis Gesellschaft – wurde das Patientenkollektiv in 2 Gruppen unterteilt:

Patienten mit Sepsis und Patienten ohne Sepsis.

Non-Sepsis-Gruppe: 19 Patienten ICU-Mortalität von 26,3 % (5/19)

Sepsisgruppe: 39 Patienten ICU-Mortalität von 28,2 % (11/39).

Da der Beobachtungszeitraum eines einzelnen Patienten ggf. bis zu 21 Tagen betragen konnte, wurden zur statistischen Auswertung die einzelnen Tage zu Tagesgruppen zusammengefasst, die sich wie folgt zusammensetzen:

- Tagesgruppe 1: MW der Tage 1,2,
- Tagesgruppe 2: MW der Tage 3,4,5,
- Tagesgruppe 3: MW der Tage 6,7,8,9
- Tagesgruppe 4: MW der Tage 10,11,12,13,14
- Tagesgruppe 5: MW der Tage 15,16,17,18,19,20,21

4.3 Ergebnisse der Score-Systeme

4.3.1 SAPS II

Der SAPS II-Score des Gesamtkollektivs konnte am Aufnahmetag einen signifikanten Unterschied mit einem $p=0,04$ zwischen Überlebenden und Verstorbenen zeigen.

Tabelle 6. Mediane des SAPS II-Scores des Gesamtkollektivs

bei Aufnahme	Überlebende n=42	Verstorbene n=16	p-Wert
SAPS II			
Median	35	49	0,04*
CI	32,4-40,2	41,3-52,3	
Max.	65	71	
Min.	13	33	

SAPS= Simplified Acute Physiology Score, *=T-Test nach Student

Abbildung 10 zeigt die SAPS II-Werte im Boxplot-Diagramm im Vergleich Überlebende vs. Verstorbene in Bezug auf die ICU-Mortalität. Mit einem p von 0,04 wiesen die Verstorbenen signifikant höhere SAPS-Werte auf.

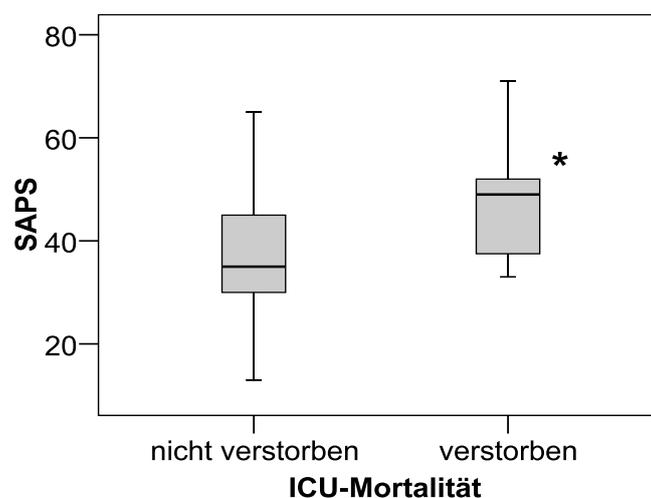


Abbildung 10. Boxplot-Diagramm der SAPS II-Werte des Gesamtkollektivs in Bezug auf die ICU-Mortalität (*= $p < 0,05$), SAPS=Simplified Acute Physiology Score II

Weiterhin erfolgte die Analyse der SAPS II-Werte hinsichtlich der Gruppeneinteilung. Nach der Prüfung auf eine Normalverteilung konnten hier mittels des T-Tests nach Student keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen werden. Eine Prüfung auf Signifikanz innerhalb der Gruppen konnte einen Zusammenhang zwischen deutlich erhöhten SAPS II-Werten bei den verstorbenen Patienten mit einem p-Wert von 0,013 nachweisen. Bei den Überlebenden der Sepsisgruppe lag der mediane SAPS II-Wert bei $34 \pm 11,4$, bei den Verstorbenen bei $44,36 \pm 9,33$. In der Non-Sepsis-Gruppe konnte kein Zusammenhang festgestellt werden.

Tabelle 7. SAPS II nach Gruppeneinteilung

bei Aufnahme	keine Sepsis n=19	Sepsis n=39	p-Wert
SAPS II	p=0,79*	p=0,013*	n.s
Median	38	37	
CI	35,8-50	33,7-41,2	
Max.	71	63	
Min.	16	13	

**= Signifikanzanalyse innerhalb der Gruppe zwischen Verstorbenen und Überlebenden, CI=Konfidenzintervall*

4.3.2 Sequential Organ Failure Assessment

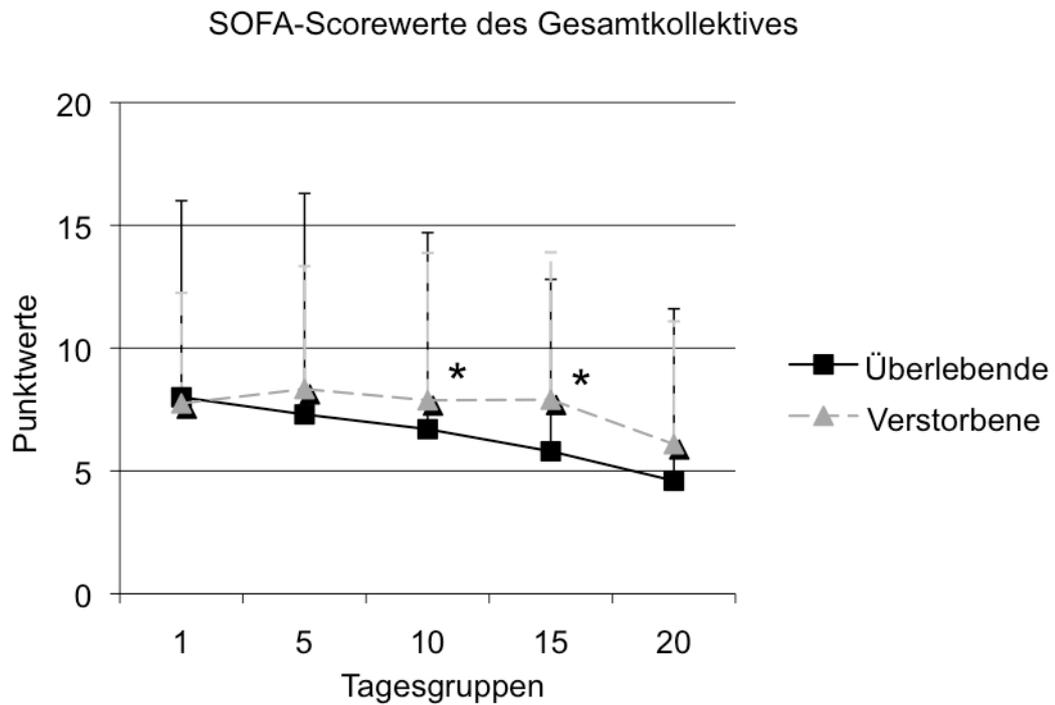


Abbildung 11. SOFA-Scorewerte bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten, (Median + Range), $*=p<0,05$, SOFA=Sequential Organ Failure Assessment

Der SOFA-Score konnte nur an den Tagesgruppen 10 und 15 einen signifikanten Unterschied zwischen Verstorbenen und Überlebenden zeigen.

Tabelle 8. Signifikanzen der der SOFA-Werte Überlebende vs. Verstorbene

Tagesgruppe	1	5	10	15	20
SOFA	0,589	0,350	0,020*	0,048*	0,322

SOFA=Sequential Organ Failure Assessment, $* = p<0,05$

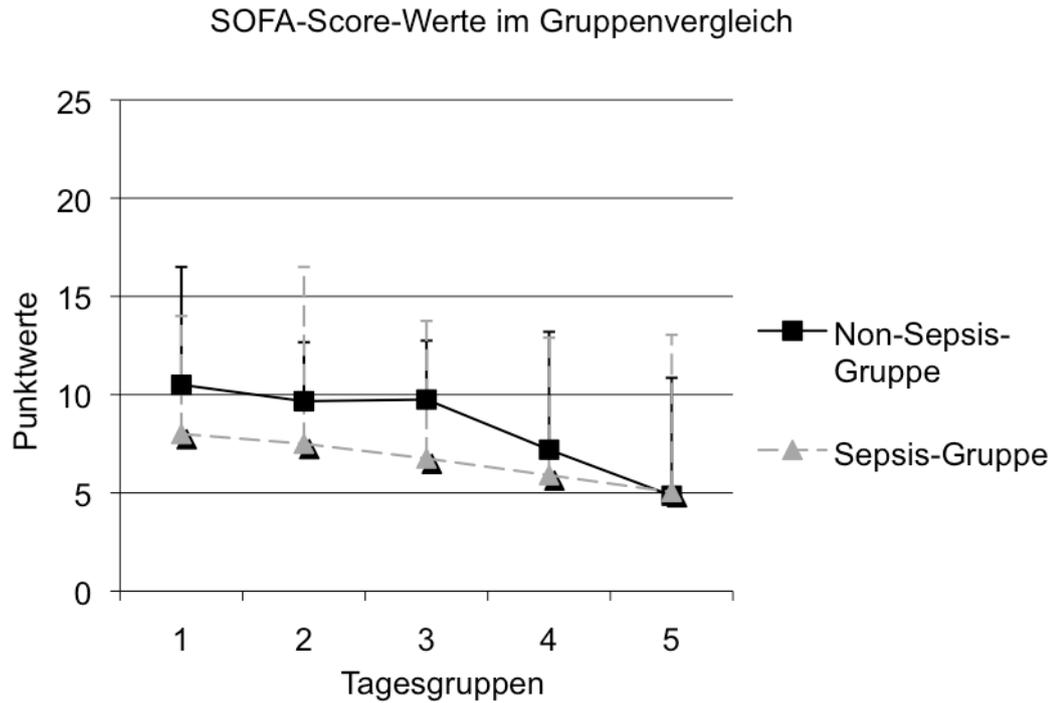


Abbildung 12. SOFA-Scorewerte im Gruppenvergleich, (Median + Range), SOFA=Sequential Organ Failure Assessment

Tabelle 9. Signifikanzniveaus der SOFA-Werte im Gruppenvergleich

Tagesgruppe	1	5	10	15	20
SOFA	0,440	0,281	0,855	0,364	0,817

SOFA=Sequential Organ Failure Assessment

Abbildung 12. und Tabelle 9. zeigen deutlich, dass der SOFA-Score im Verlauf an keinem einzigen Gruppentag einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit einer Sepsis und Patienten ohne Sepsis zeigen kann.

4.4 Ergebnisse der NRBC-Messung

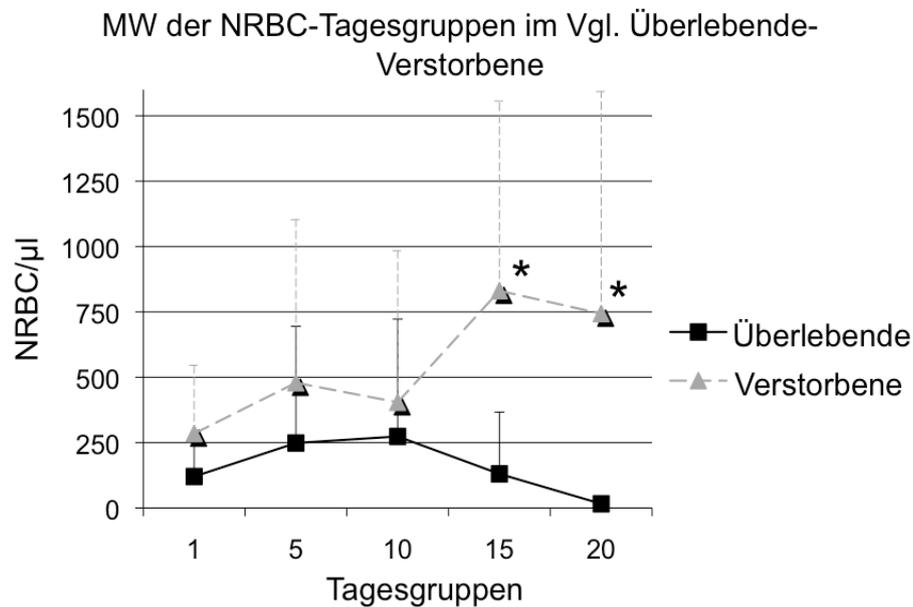


Abbildung 13. MW der NRBC-Tagesgruppen des Gesamtkollektivs in Bezug auf die ICU-Mortalität, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, NRBC=Nucleated Red Blood Cells, * = $p < 0,05$

Im Vergleich der Verläufe der Tagesgruppen zwischen den überlebenden bzw. verstorbenen Patienten konnte die Anzahl von NRBC nur an den letzten beiden Gruppentagen 15 bzw. 20 einen signifikanten Unterschied aufweisen - am Gruppentag 15 mit einem p-Wert von 0,023, am Gruppentag 20 mit einem p-Wert von 0,001.

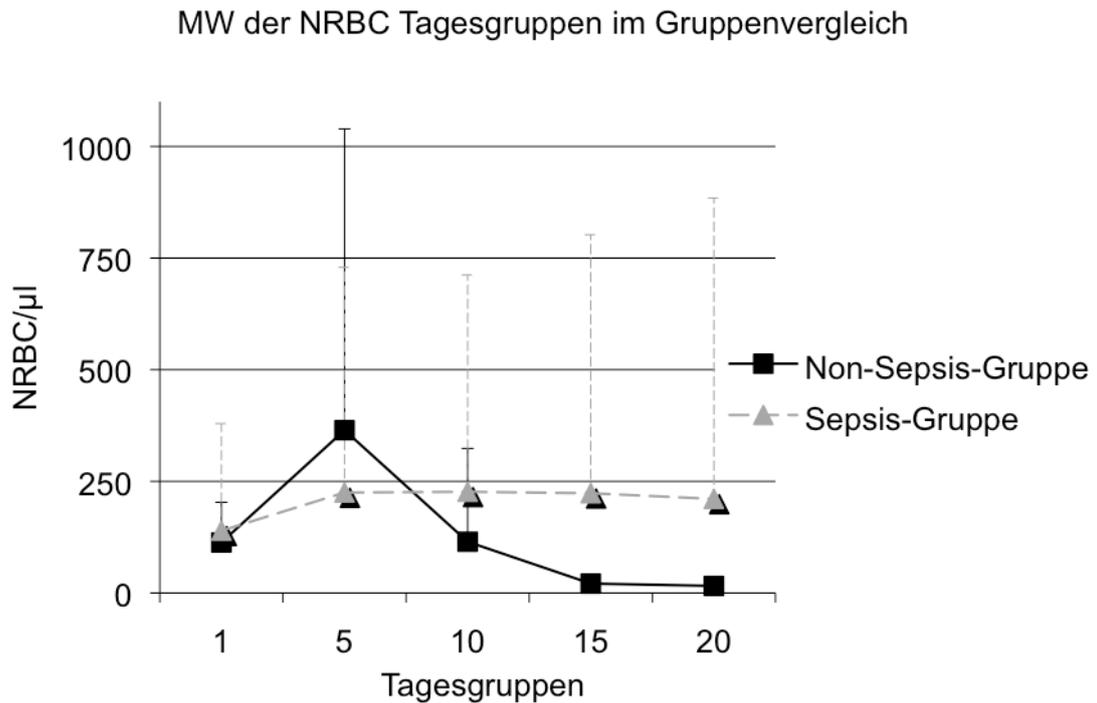


Abbildung 14. MW mit SD der NRBC-Tagesgruppen im Gruppenvergleich, NRBC=Nucleated Red Blood Cells, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung

Betrachtet man die Gruppen, so lassen sich folgende Ergebnisse eruieren. Der Non-Sepsis-Gruppe sind insgesamt 19 Patienten zugeordnet. 5 Patienten verstarben, dies entspricht einer ICU-Mortalität von 26,3 % (5/19). Innerhalb dieser Gruppe lässt sich in keiner der Tagesgruppen eine Assoziation mit dem Auftreten von NRBC und der ICU-Mortalität nachweisen. Tabelle 11. zeigt die entsprechenden Signifikanzniveaus.

Tabelle 10. Signifikanzniveaus der NRBC-Werte der Tagesgruppen Non-Sepsis-Gruppe vs. Sepsisgruppe

Gruppentag	1	5	10	15	20
NRBC	0,709	0,680	0,634	0,069	0,167

NRBC=Nucleated Red Blood Cells

4.4.1 Ergebnisse der NRBC-Messung in der Sepsisgruppe

Der Sepsisgruppe konnten insgesamt 39 Patienten zugeordnet werden. 11 Patienten verstarben, dies entspricht einer ICU-Mortalität von 28,2 % (11/39). In dieser Gruppe konnte an jedem einzelnen Gruppentag eine hohe Signifikanz mithilfe des U-Tests nach Mann-Whitney in Bezug auf das Auftreten von NRBC und ICU-Mortalität hergestellt werden. Gruppentage 1 und 20 zeigten einen Wert $p < 0.01$, Gruppentage 5, 10, 15 jeweils einen Wert von $p < 0,003$.

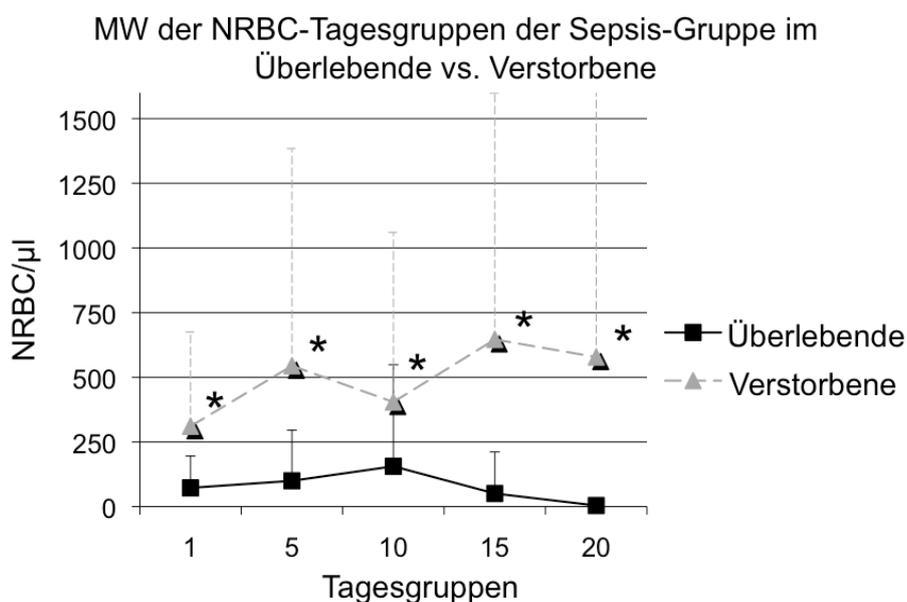


Abbildung 15 MW und SD der NRBC-Tagesgruppen der Überlebenden vs. Verstorbenen der Sepsisgruppe, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, * = $p < 0,05$

Mehrere Studien konnten zeigen, dass erhöhte NRBC-Werte mit einer erhöhten Mortalität vergesellschaftet sind [63]. Es erfolgte die Analyse der ICU-Mortalität im Hinblick auf erhöhte NRBC-Werte. Als Cut-off-Wert wurden 200 NRBC/µl gewählt. Bei Werten $> 200 \mu\text{l}$ lag die Mortalität bei 71,4 % (5/7), im Gegensatz dazu bei Werten $< 200 \mu\text{l}$ bei 18,75 % (6/32).

Tabelle 11. Kreuztabelle der NRBC-Werte in der Sepsisgruppe

	nicht verstorben	verstorben	Gesamt
NRBC $< 200 \mu\text{l}$	26	6	32
NRBC $> 200 \mu\text{l}$	2	5	7
Gesamt	28	11	39

4.5 Ergebnisse der Routineparameter im Verlauf

Im Rahmen der Routinediagnostik wurden die Entzündungsparameter CrP, Leukozytenzahl und IL-6 bestimmt. Die Darstellung erfolgt in den entsprechenden Tagesgruppen in Form der Mittelwerte mit Standardabweichung.

4.5.1 Überlebende vs. Verstorbene

Tabelle 13. zeigt die Signifikanzniveaus (p-Werte). Als einziger Verlaufsparemeter konnte das IL-6 am Gruppentag 20 signifikant zwischen Überlebenden und Verstorbenen unterscheiden.

Tabelle 12. Signifikanzniveaus der Verlaufsparemeter von überlebenden vs. verstorbene Pat.

Gruppentag	1	5	10	15	20
CrP	0,618	0,422	0,674	0,697	0,610
Leukozyten	0,083	0,073	0,234	0,701	0,352
IL-6	0,445	0,491	0,323	0,298	0,015*

CrP=C-reaktives Protein, IL-6=Interleukin 6, * = $p < 0,05$

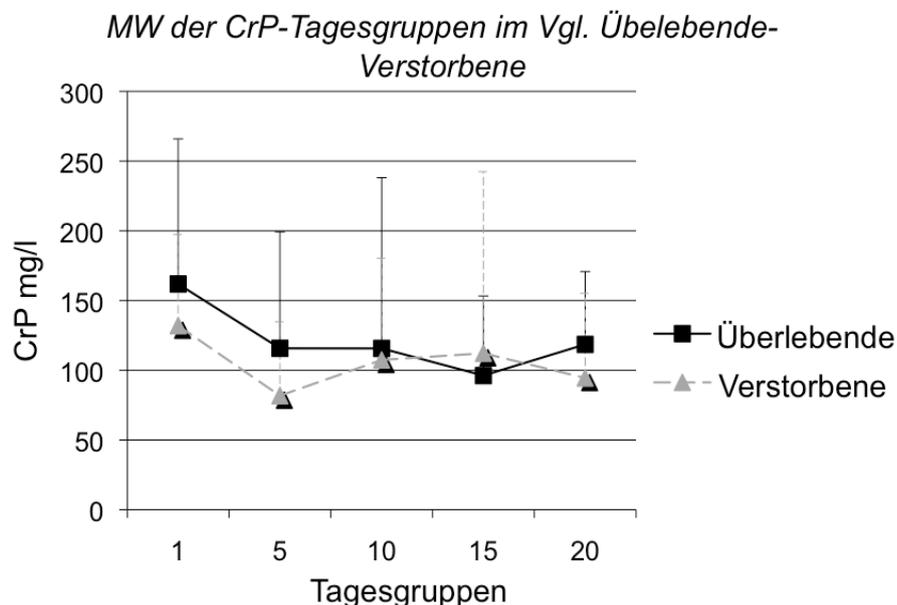


Abbildung 16. CrP bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten, CrP=C-reaktives Protein, MW=Mittelwerte, SD=Standardabweichung,

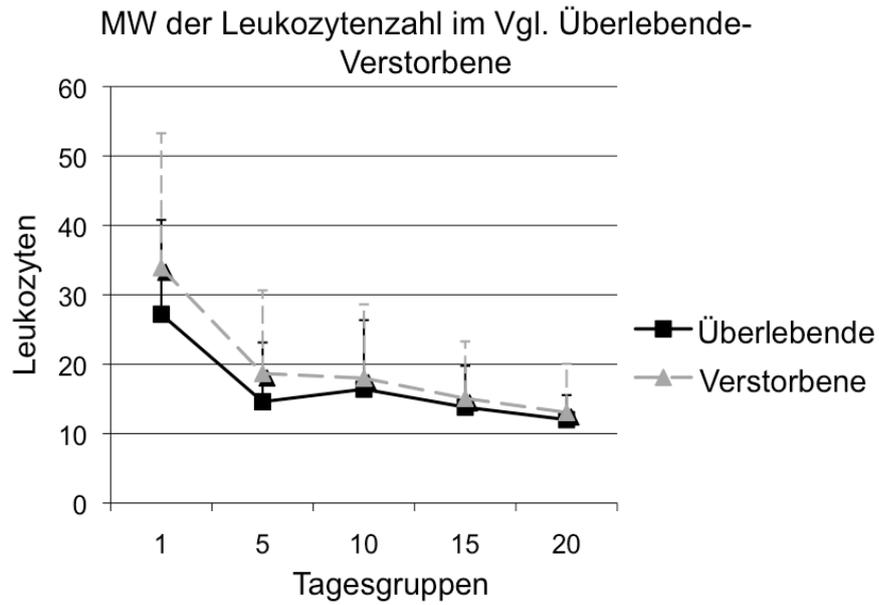


Abbildung 17. Leukozytenanzahl bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten, Mittelwert und Standardabweichung

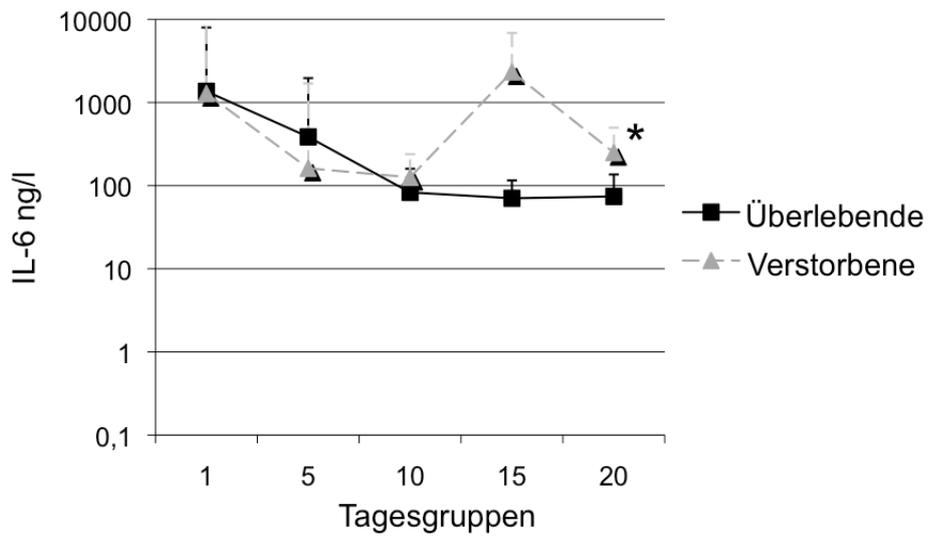


Abbildung 18. IL-6 in ng/ml bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten, Mittelwerte und Standardabweichung in log.-Skalierung, * = $p < 0,5$

4.5.2 Non-Sepsis-Gruppe vs. Sepsis-Gruppe

Tabelle 13. Signifikanzniveaus der Verlaufparameter der Tagesgruppen im Vergleich Non-Sepsis vs. Sepsis

Gruppentag	1	5	10	15	20
CrP	0,347	0,011*	0,192	0,409	0,112
Leukozyten	0,001*	0,005*	0,118	0,603	0,487
IL-6	0,450	0,250	0,847	0,252	0,111

CrP=C-reaktives Protein, IL-6=Interleukin 6, * = $p < 0,05$

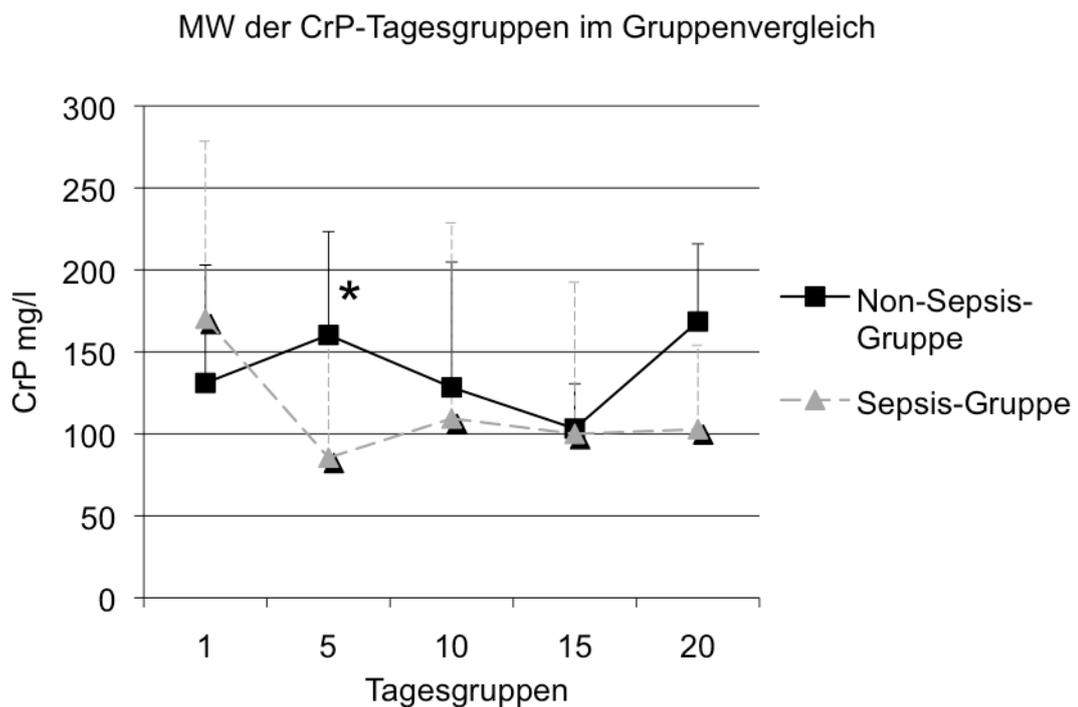


Abbildung 19. CrP der Tagesgruppen Non-Sepsis- vs. Sepsis-Gruppe
CrP=C-reaktives Protein, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, * = $p < 0,05$

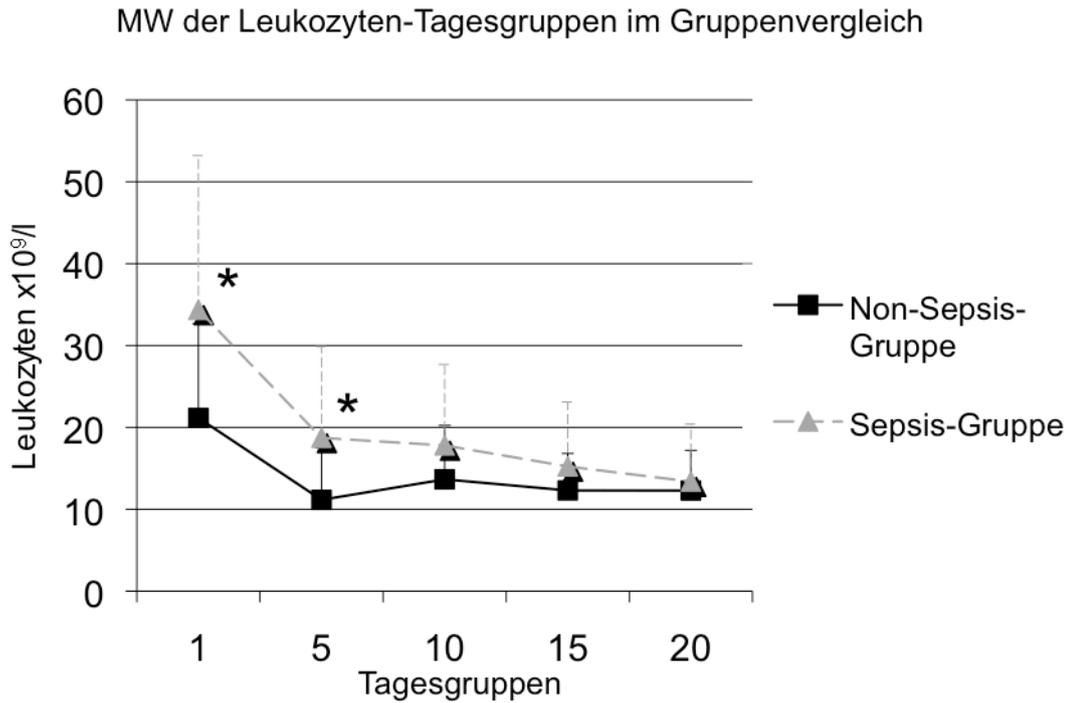


Abbildung 20. Leukozytenanzahl der Non-Sepsis- vs. der Sepsis-Gruppe
 MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung, * = $p < 0,05$

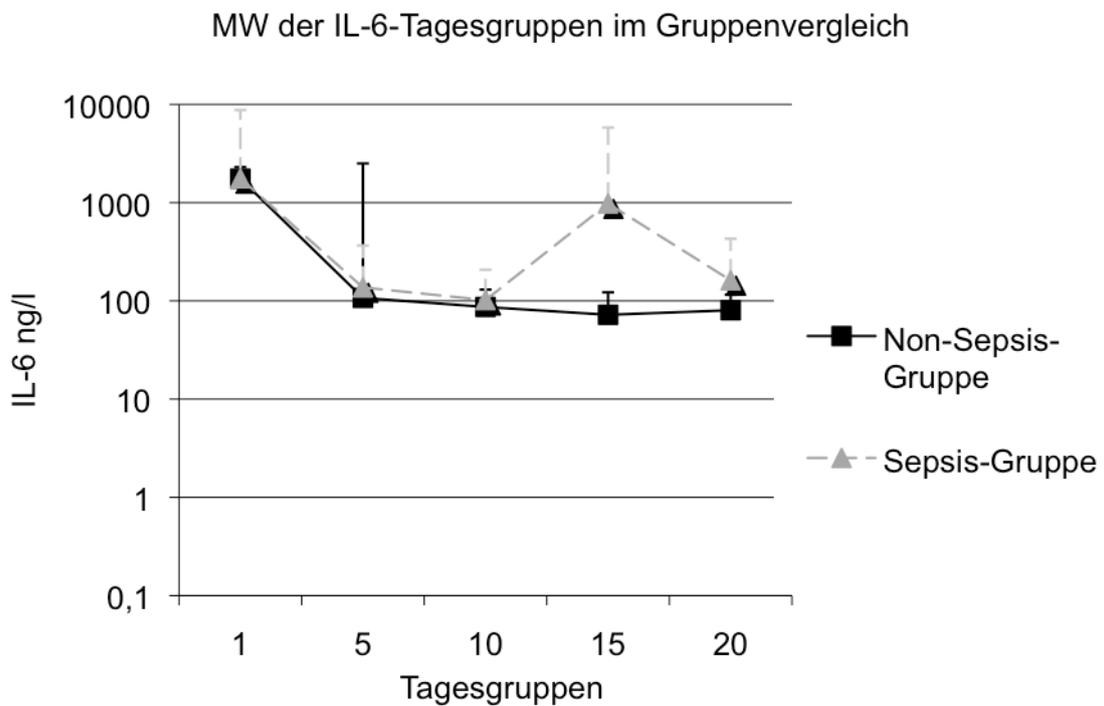


Abbildung 21. IL-6 der Tagesgruppen Non-Sepsis- vs. Sepsis-Gruppe,
 MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung in log. Skalierung

4.6 ROC-Analysen

4.6.1 Überlebende vs. Verstorbene

Im Anschluss erfolgte eine ROC-Analyse (ROC=Receiver-Operating-Characteristics) der einzelnen Tagesgruppen der Verlaufparameter. Mit ROC-Kurven kann die Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests graphisch dargestellt, und mithilfe der AUC-Werte (Area under the Curve) quantifiziert werden. AUC-Werte über 0,7 werden als klinisch bedeutsam angesehen. Zunächst erfolgte eine ROC-Analyse für die Verlaufparameter in Bezug auf die ICU-Mortalität.

Tabelle 14. AUC-Werte der Verlaufparameter in Bezug auf die ICU-Mortalität

Gruppentag	1	5	10	15	20
NRBC	0,807*	0,857*	0,862*	0,815*	0,857*
CrP	0,429	0,571	0,500	0,929*	0,615
Leukozyten	0,530	0,667	0,683	0,614	0,735*
IL-6	0,688	0,715*	0,472	0,590	0,806*
SOFA	0,464	0,613	0,631	0,679	0,783*

NRBC=Nucleated Red Blood Cells, CrP=C-reaktives Protein, IL-6=Interleukin 6, SOFA=Sequential Organ Failure Assessment, * =AUC >0,7

Die Ergebnisse zeigen, dass die NRBC an jedem Gruppentag mit AUC-Werten von >0,8 signifikant in Bezug auf die ICU-Mortalität zwischen Verstorbenen und Überlebenden unterscheiden. Alle weiteren Infektionsparameter konnten nur an vereinzelt Gruppentagen zwischen Überleben und Versterben trennen. An Gruppentag 5 und 20 konnte das Interleukin-6 signifikant trennen, erreichte aber nie annähernd die AUC-Werte der NRBC. Der SOFA-Score konnte nur am letzten Gruppentag signifikant trennen.

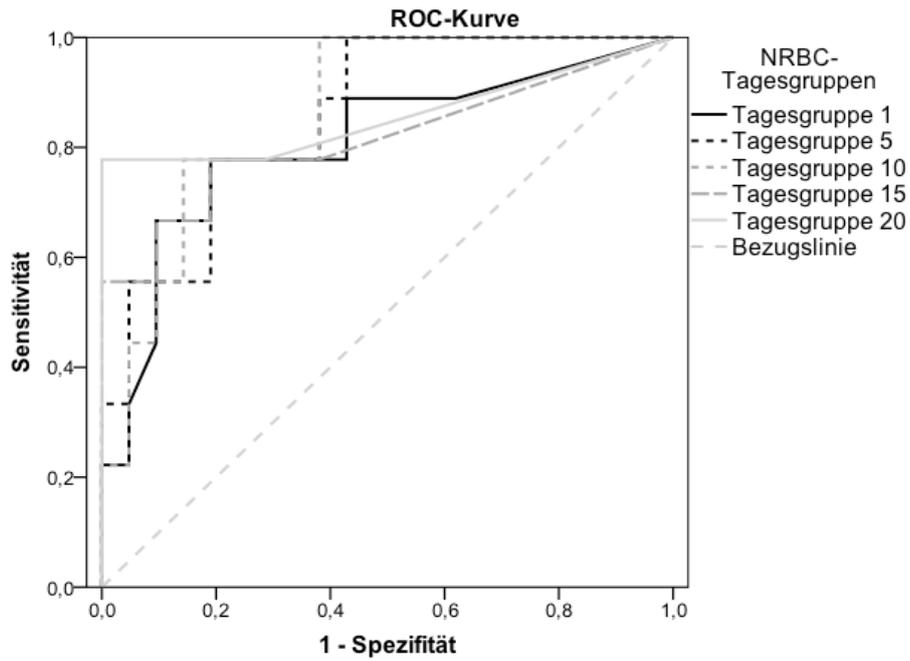


Abbildung 22. ROC-Kurven der NRBC-Tagesgruppen in Bezug auf die ICU-Mortalität, NRBC=Nucleated Red Blood Cells

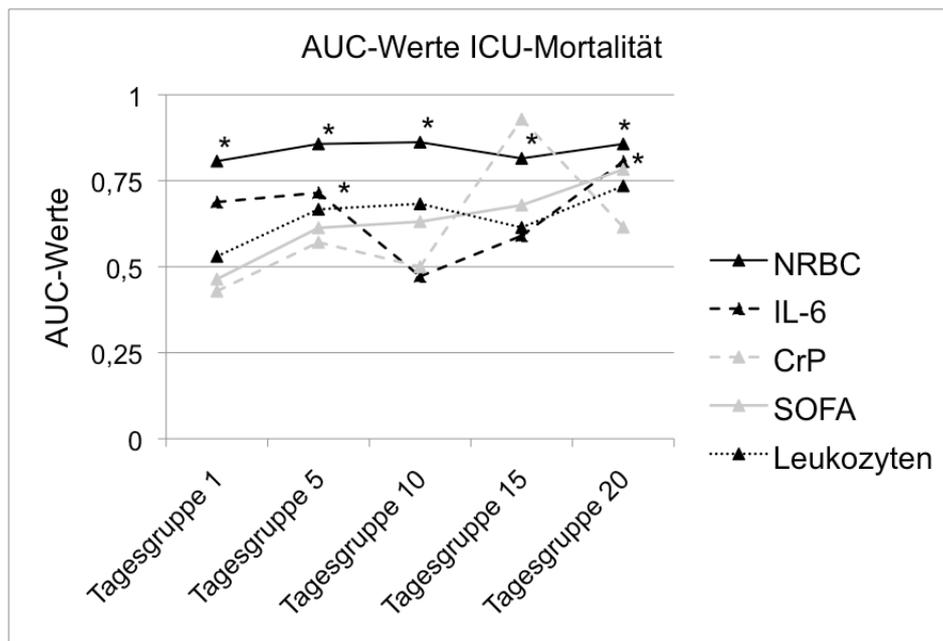


Abbildung 23. AUC-Werte der Infektionsparameter bzw. des SOFA-Scores in Bezug auf die ICU-Mortalität, * =AUC >0,7, AUC=Area under the Curve

4.6.2 Non-Sepsis-Gruppe vs. Sepsis-Gruppe

Weiterhin erfolgte die Analyse der Daten im Hinblick auf den Nachweis einer Sepsis (Infektion). Nur am ersten Gruppentag konnten die Nucleated Red Blood Cells zwischen septischen und nicht septischen Patienten trennen. Einzig die Leukozytenzahl konnte an drei der fünf Gruppentage mit deutlich erhöhten AUC-Werten von $>0,8$ zwischen septischen und nicht septischen Patienten unterscheiden – nachfolgend noch einmal tabellarisch die AUC-Werte im Verlauf.

Tabelle 15. AUC-Werte der Verlaufparameter in Bezug auf die Gruppeneinteilung Non Sepsis vs. Sepsis

Gruppentag	1	5	10	15	20
NRBC	0,71*	0,69	0,61	0,54	0,58
Leukozyten	0,84*	0,86*	0,86*	0,55	0,6
IL-6	0,39	0,58	0,54	0,643	0,7*
SOFA	0,13	0,2	0,14	0,28	0,47

AUC=Area under the Curve, * = AUC $>0,7$

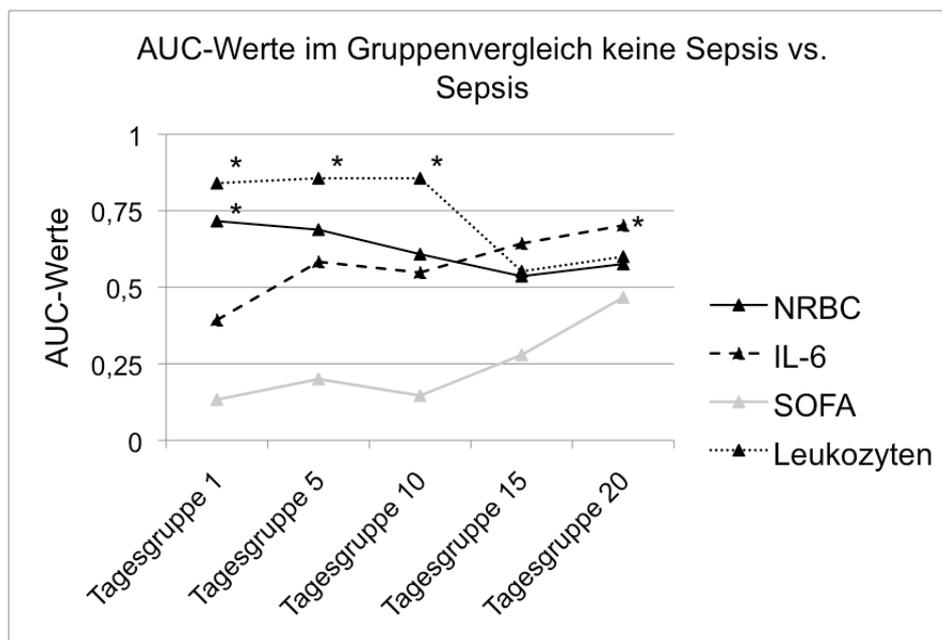


Abbildung 24. AUC-Werte der Verlaufparameter in Bezug auf den Nachweis einer Sepsis, AUC=Area under the Curve, * = AUC $>0,7$)

4.6.3 ROC-Analyse der Sepsis-Gruppe

Zusätzlich erfolgte eine Analyse des Patientenkollektivs mit nachgewiesener Sepsis. Auch hier zeigten sich im Vergleich mit dem gut validierten SOFA-Score deutlich erhöhte AUC-Werte in Bezug auf die ICU-Mortalität.

Tabelle 16. AUC-Werte der NRBC- vs. der SOFA-Tagesgruppen

Gruppentag	1	5	10	15	20
NRBC	0,785*	0,854*	0,847*	0,819*	0,861*
SOFA	0,563	0,711*	0,738*	0,742*	0,816*

AUC=Area under the Curve, NRBC=Nucleated Red Blood Cells, SOFA=Sequential Organ Failure Assessment, *=AUC >0,7

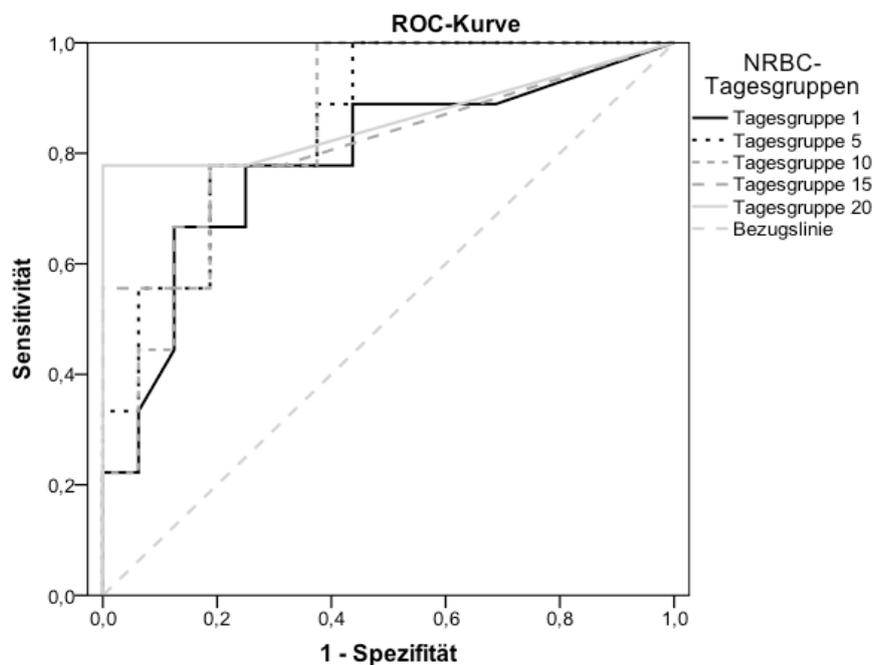


Abbildung 25. ROC-Kurven der NRBC-Tagesgruppen der Sepsis-Patienten in Bezug auf die ICU-Mortalität, NRBC=Nucleated Red Blood Cells

5 Diskussion

5.1 Aussage

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen einen starken Zusammenhang zwischen dem Auftreten von NRBC und der ICU-Mortalität des untersuchten Patientenkollektivs. Dies gilt besonders für die untersuchte Sepsisgruppe. Neben diesen deutlichen Aussagen zur Mortalität konnte keine eindeutige Aussage zu Zusammenhängen zwischen dem Auftreten von NRBC und dem Nachweis einer Sepsis gelingen.

5.2 Patientenkollektiv und Analyseverfahren

NRBC, die unreifen kernhaltigen Vorstufen der Erythrozyten, sind jenseits der Neugeborenenperiode im Blut physiologisch nicht nachweisbar. Sind diese im Blut vorhanden, so besteht in der Regel eine Assoziation mit verschiedenen schweren Erkrankungen wie beispielsweise Malignomen, kardiologischen Erkrankungen, Infektionen, hämatologischen Erkrankungen sowie akuten und chronischen Anämien [64-67]. Stachon und Mitarbeiter konnten in zahlreichen Studien einen deutlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von NRBC und einer erhöhten Mortalität nachweisen [7, 34, 68, 69].

Ziel dieser Studie ist es, das Auftreten von NRBC im Hinblick auf die Mortalität bei Intensivpatienten mit einer nachgewiesenen Sepsis zu untersuchen. Insgesamt konnten 58 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Betrachtet man das Patientenkollektiv im Hinblick auf Alter, Grunderkrankung und Erkrankungsschwere, so sind diese Patienten im Vergleich mit anderen Studien repräsentativ für eine operative Intensivstation eines Zentrums der Maximalversorgung [70]. Als primärer Outcome-Parameter wurde die ICU-Mortalität gewählt. Verschiedene Studien, u.a. von Vincent et al., Sakr- und Silvestre et al., konnten zeigen, dass sich dieser Parameter in der Sepsisforschung als valide erwiesen hat [6, 40, 71, 72]. Mit 27,1 % (16/58) liegt die ICU-Mortalität nahe der Krankenhausmortalität mit 29,3 % (17/58) und der 28-Tage-Mortalität mit 19,2 % (11/58). Der einzige signifikante Unterschied in der deskriptiven Statistik des Patientenkollektivs zeigte wie erwartet der prädiktive Outcome-Score SAPS II in Bezug auf die ICU-Mortalität. Die Verstorbenen

zeigen mit einem Median von 49 (CI 41,3-52,3) einen deutlich höheren Wert ($p=0,04$) verglichen mit den Überlebenden mit einem Median von 35 (CI 32,4-40,2; Abbildung 11). Mit 27,6 % liegt die ICU-Mortalität des Patientenkollektivs damit sogar über der durch den SAPS II-Score zu erwartenden Mortalität von 19,2 %. Weiterhin erfolgte eine Analyse der Patientengruppen getrennt voneinander in Bezug auf Alter, Erkrankungsschwere und Aufenthaltsdauer. Die Mortalität der Sepsisgruppe ist mit 36 % ähnlich der Non-Sepsis-Gruppe mit 36 %. Auch diese Ergebnisse sind mit bereits publizierten Studien vereinbar [72, 73]. Entsprechend der Gruppeneinteilung in Non-Sepsis-Gruppe und Sepsisgruppe ist der Anteil an Patienten mit primär nicht septischen Aufnahmediagnosen wie Polytrauma mit 53 % in der Gruppe 1 erwartungsgemäß höher als in der Gruppe 2 mit 13 %. Studien mit ähnlicher Gruppeneinteilung zeigten eine entsprechende Diagnoseverteilung [72, 74]. Bezüglich der NRBC-Bestimmung unterscheidet sich diese Studie von früheren Untersuchungen. Die Bestimmung der NRBC erfolgte mit dem „Sysmex XE-2100 Automated Hematology Analyzer“. Die analytische Sensitivität der durchflusszytometrischen Methode liegt bei >19 NRBC/ μ L. Die durchflusszytometrisch gemessenen NRBC-Konzentrationen korrelieren bei höheren Konzentrationen gut mit der mikroskopischen Methode. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass vor allem bei niedrigeren NRBC-Konzentrationen ($<200/\mu$ l) die durchflusszytometrische Methode der mikroskopischen deutlich überlegen ist [68]. Es ist zu vermuten, dass in bisher publizierten Studien mit mikroskopischem NRBC-Nachweis ein großer Teil NRBC-positiver Patienten mit niedrigen Konzentrationen nicht erfasst wurde [68]. Die Vorteile der Durchflusszytometrie liegen in der Objektivität, der Zeit- und Kostenersparnis sowie in der höheren Spezifität und Sensitivität [75, 76].

5.3 Diskussion der Ergebnisse im Einzelnen

Bei der Sepsis handelt es sich um ein Krankheitsgeschehen mit einem ausgesprochen dynamischen Verlauf. Daher erfolgte die Untersuchung bzw. die Analyse der Infektionsparameter über einen Beobachtungszeitraum von bis zu 21 Tagen. Die in der klinischen Routine etablierten Infektionsparameter CrP sowie IL-6 konnten in Bezug auf die ICU-Mortalität des Gesamtkollektivs erwartungsgemäß nur vereinzelt signifikante Unterschiede zwischen Überlebenden und Verstorbenen aufzeigen [14]. Lediglich die Leukozytenzahl konnte an den ersten beiden Tagesgruppen zwischen Non-Sepsis- und Sepsis-Patienten trennen. Die Leukozytenzahl ist zwar eines der Diagnosekriterien bei SIRS und Sepsis, spielt jedoch im Vergleich zu anderen Infektionsparametern nur eine untergeordnete Rolle [14, 77].

Ein Erklärungsansatz wäre doch das deutliche Überwiegen der überwiegend septischen Hauptdiagnosen mit intraabdominellem Fokus in der Sepsis-Gruppe, im Gegensatz zu den überwiegend polytraumatisierten Pat. in der Non-Sepsis-Gruppe.

Mit klar signifikanten Ergebnissen an den beiden letzten Gruppentagen konnten die NRBC mit einem $p=0,023$ bzw. $p=0,001$ zwischen Versterben und Überleben trennen. Lediglich das IL-6 war am letzten Gruppentag (Gruppentag 20) mit einem $p=0,015$ ebenfalls in der Lage, signifikant zwischen Überlebenden und Verstorbenen zu trennen.

Weiterhin erfolgte eine Analyse der Verlaufsparemeter im Gruppenvergleich, um eine entsprechende Diskriminierung zwischen dem Auftreten einer Sepsis herzustellen. Ein signifikanter Unterschied konnte nur an den ersten beiden Gruppentagen für die Leukozytenzahl nachgewiesen werden.

Die Literatur zeigte für die etablierten Infektionsparameter wie CrP und IL-6 deutlich aussagekräftigere Ergebnisse, was den Schweregrad bzw. die Mortalität angeht [78]. Patel et al. konnten das IL-6 als den deutlich sensitiveren Parameter für ein Inflammationsgeschehen identifizieren [79]. Ebenso konnten Wakefield et al. deutlich erhöhte IL-6-Plasmakonzentrationen mit der Erkrankungsschwere und der Prognose korrelieren [78, 80]. In dieser Studie zeigen das IL-6 und das CrP nur untergeordnete bzw. keine entsprechenden Korrelationen, was z.B. an

der oben beschriebenen Heterogenität der Patientengruppen liegen kann. Bei den o.a. Studien handelt es sich ausschließlich um Studien mit septischen Krankheitsbildern. Das Patientenkollektiv dieser Studie enthält mit fast 26 % einen hohen Anteil an Traumapatienten. Lediglich die Leukozytenzahl lässt in der ROC-Analyse an den ersten 2 Gruppentagen zwischen dem Vorliegen einer Sepsis und einem nicht septischen Krankheitsbild differenzieren. Ähnlich verhält es sich bei der Analyse des Aufnahme-Scores SAPS II bzw. des Verlaufsscores SOFA. Die Ergebnisse des SAPS II zeigen eine deutliche Korrelation zwischen dem Versterben und Überleben des Gesamtkollektivs. [38]. Im Gegensatz dazu zeigt der SOFA-Score nur an zwei Gruppentagen eine Diskriminierung zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten. Im Vergleich der Gruppen bzgl. des Nachweises einer Sepsis konnte der SOFA-Score an keinem Gruppentag differenzieren. Dies bestätigt die einschlägige Literatur, die den SOFA-Score als valides Instrument zur Beurteilung des Krankheitsverlaufes bzw. zum Therapiemonitoring empfiehlt, jedoch nicht als Mittel zur Individualprognose bzw. Risikoabschätzung betrachtet [81, 82].

Die Arbeitsgruppe um Stachon publizierte mehrere Studien, die dies bestätigten. NRBC eignen sich zur Identifizierung von Hochrisikopatienten sowie für ein entsprechendes Therapiemonitoring, da erhöhte NRBC-Werte mit einer entsprechend hohen Mortalität vergesellschaftet sind [63, 83]. In einer Studie im Jahr 2005 konnte Stachon ein um 15,2-fach erhöhtes Mortalitätsrisiko nach Korrektur von Risikofaktoren wie z. B. Patientenalter bei Patienten mit positiven NRBC-Blutproben nachweisen [34]. Die Untersuchungen von Stachon konnten sogar eine prognostische Aussagekraft im Hinblick auf die Mortalität bei jüngeren Patienten aufzeigen [83]. Dies bestätigen auch die Ergebnisse dieser Studie. Die deskriptiven Analysen zeigen sowohl zwischen Verstorbenen und Überlebenden, als auch zwischen Sepsis- und Non-Sepsis-Patienten keinen Zusammenhang mit dem Lebensalter. Die ROC-Analysen hingegen zeigten deutliche Zusammenhänge zwischen dem Auftreten der NRBC und der ICU-Mortalität. ROC-Analysen veranschaulichen die Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests bzw. Parameters. Als Maß werden die AUC-Werte (Area under the curve) herangezogen, wobei Werte über 0,7 als aussagekräftig (hohe Spezifität und Sensitivität) angesehen werden. In diesem Falle zeigen die NRBC an allen Gruppentagen AUC-Werte mit $>0,8$ an und bestätigen damit die NRBC

als validen Prognoseparameter für dieses Patientenkollektiv. Signifikante AUC-Werte konnten die NRBC im Gruppenvergleich zur Identifizierung von Patienten mit einer Sepsis nur am ersten Gruppentag mit einem AUC-Wert von 0,71 aufweisen. Ansonsten konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten von NRBC und dem Vorliegen einer Sepsis hergestellt werden. Eine ROC-Analyse der Sepsisgruppe zeigt ebenfalls deutlich signifikante AUC-Werte in Bezug auf die ICU-Mortalität. Stachon und Mitarbeiter wiesen in einer Arbeit von 2007 nach, dass NRBC-Werte mit Werten $>200/\mu\text{l}$ bei Intensivpatienten mit einer Mortalität von 78,6 % einhergehen - unabhängig vom Vorhandensein eines septischen Krankheitsbildes [63]. Dies bestätigt auch diese Studie in der Sepsisgruppe. Hier zeigt sich bei Werten $>200/\mu\text{l}$ eine ICU-Mortalität von 71,4 %. Der bisher gut validierte SOFA-Score konnte in den ROC-Analysen nur innerhalb der Sepsisgruppe signifikante AUC-Werte erreichen. Im direkten Vergleich Überlebende vs. Verstorbene konnten keine signifikanten Ergebnisse im Hinblick auf die ICU-Mortalität erreicht werden. Dies bestätigt noch einmal die o.a. These, dass die bisher gut validierten Intensiv-Scores in Bezug auf eine individuelle Risikoabschätzung nur bedingt nutzbar sind.

Auch die Kombination von NRBC und etablierten Infektionsparametern wie dem IL-6 konnten in der vorliegenden Studie keinen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Sepsis herstellen. Verschiedene Studien konnten die Bedeutung von IL-6 im Rahmen von inflammatorischen Geschehen und die Beteiligung an der Erythropoese nachweisen.[84, 85] Letztendlich bleibt die Pathogenese für das Auftreten von NRBC noch ungeklärt. Bisher gab es verschiedene Erklärungsansätze, die das Auftreten von NRBC erklären sollten. Dazu gehören chronische Anämie-Zustände, Knochenmarkinsuffizienz sowie Barriestörungen im Bereich der Knochenmarksinsinusoide [32, 65]. In früheren Studien konnte ein Zusammenhang zwischen erniedrigten Hb-Werten, also einer Anämie zwar nachgewiesen werden [65, 67]. Allerdings konnten in aktuellen Studien auch erhöhte NRBC-Zahlen bei ausgeglichenen Hb-Werten beobachtet werden [83]. In der Zusammenschau lässt sich feststellen, dass das Auftreten von NRBC immer mit erhöhten allgemeinen Markern der Entzündungsreaktion einhergeht. Es ist also zu vermuten, dass systemische oder lokale Kreislaufstörungen mit entsprechender Gewebshypoxie und Anstieg der

Inflammationsparameter, wie sie bei Schwerstkranken vorkommen, das Auftreten von NRBC induzieren [34].

5.4 Methodenkritik

Valide Studien im Rahmen der Intensivmedizin durchzuführen, stellt den Untersucher vor eine Vielzahl von Problemen. Bei Intensivpatienten handelt es sich um ein heterogenes, zahlenmäßig deutlich reduziertes Patientenkollektiv, wenn man sich auf eine monozentrische Studie beschränkt. Dies bedeutet wiederum eine deutlich geringere Patientenzahl und eine verlängerte Studiendauer [86]. Multizentrische Studien sollten angestrebt werden, weil so in kürzerer Zeit ein größeres Patientenkollektiv akquiriert werden kann. Von Nachteil sind dann allerdings die Unterschiede der Therapie- bzw. Behandlungskonzepte, die zwischen den Kliniken deutlich variieren können [87]. In dieser Studie erfolgte die Gruppeneinteilung nach den entsprechenden ACCP/SCCM-Sepsis-Kriterien, wobei eine Subgruppenunterteilung in Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock, wie sie z.B. in der Studie von Castelli zum Einfluss von Procalcitonin und des CrP bei SIRS/Sepsis aufgrund der niedrigen Fallzahl nicht erfolgte [8, 78]. Ebenso muss man erwähnen, dass in dieser Studie das Procalcitonin, das sich in jüngster Zeit als sensitiver und spezifischer Sepsis-Marker herauskristallisiert hat, noch nicht bestimmt wurde [88, 89].

Das Patientenkollektiv mit 58 Patienten wurde in zwei Gruppen eingeteilt. Patienten mit einer nachgewiesenen Infektion bzw. positiven Blutkulturen wurden der Gruppe Sepsis (n=39) zugeteilt. Konnte kein Keimnachweis erfolgen, wurden sie der Gruppe Non- Sepsis (n=19) zugeteilt.

Eine weitere Differenzierung nach Keimnachweis bzw. Erregergruppen wäre wünschenswert gewesen. Dies hätte jedoch wieder eine höhere Fallzahl erfordert, um entsprechend valide Zusammenhänge zu veranschaulichen.

5.5 Zusammenfassung

Mit ca. 60.000 Todesfällen pro Jahr stellt die Sepsis die dritthäufigste Todesursache in Deutschland dar. Die Möglichkeiten für eine frühzeitige Diagnosesicherung und eine Identifikation von Hochrisikopatienten sind noch verbesserungswürdig. Das Auftreten von NRBC außerhalb der Neugeborenenperiode ist unphysiologisch und mit einer erhöhten Mortalität vergesellschaftet. Untersuchungen haben gezeigt, dass der Nachweis von NRBC bei Intensivpatienten mit einer deutlich erhöhten Morbidität und Mortalität verbunden ist.

Die Nachweismethoden haben sich dank der Durchflusszytometrie deutlich vereinfacht und können kostengünstiger gestaltet werden. Diese Studie sollte prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von NRBC und dem Nachweis einer Sepsis bzw. der Mortalität bei Sepsispatienten besteht. Insgesamt kann ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten NRBC und der ICU-Mortalität beim gesamten Patientenkollektiv gezeigt werden. Einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Sepsis bleiben die NRBC allerdings schuldig. In der Sepsisgruppe können die NRBC klar zwischen Verstorbenen und Überlebenden differenzieren. Es ist nachweisbar, dass erhöhte NRBC-Werte mit dem deutlich erhöhten Risiko zu versterben einhergehen.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Anzahl der NRBC im peripheren Blut nicht als Sepsis-Marker dienen kann. Dennoch konnte sie in Bezug auf die individuelle Mortalität eine höhere Sensitivität und Spezifität als bisher gut validierte Verlaufsscores erzielen. Es ist anzunehmen, dass die NRBC-Zahl sich damit gut zur Identifikation von Hochrisikopatienten eignet bzw. eine genauere Individualprognose ermöglichen kann. In weiteren Studien mit größeren Patientenzahlen muss geklärt werden, ob diese Hypothese eine klinische Bedeutung erhalten wird.

6 Anhang

6.1 Simplified Acute Physiology Score II

Tabelle 17. SAPS nach Le Gall

	Punkte bei abnormal niedrigen Werten				„physiologisch“	Punkte bei abnormal hohen Werten				
Alter					<40	40-59	60-69	70-79	75-79	>80
						7	12	15	16	18
Herzschlag (/min.)			<40	40-69	70-119	120-159	>160			
			11	2		4	7			
Blutdruck syst.mm/Hg			<70	100-199	100-199	>200				
			13	5		2				
Temperatur (°C)					<39.0	>39.0				
						3				
PaO₂ (mm/Hg)/ FiO₂		<100	100-199	>200						
		11	9	6						
Urin (L/Tag)			<0,5	0,5-0,99	>1,0					
			11	4						
Harnstoff (mg/dl) oder Harnstoff-Stickstoff (mg/dl)					<60	60-179	>180			
					<28	28-83	>84			
						6	10			
Leukozyten (10 ³ /mm ³)				<1,0	1,0-19,9	>20				
				12		3				

Kalium (mmol/L)				<3 3	3,0- 4,9	>5,0 3				
Natrium (mmol/L)				<12 5	125- 144	>14 5				
Serum- Bikarbonat (mEq/L)			<15 6	15- 19 3	>20					
Billirubin (mg/dl)					<4,0	4,0- 5,9 4	>6,0 9			
Glasgow Coma Scale (vor Sedier.)	<6 26	6-8 13	9-10 7	11- 13 5	14-15					
Vorerkrankung en						Meta- stast. Karzi- nom 9	malig.- häm Erkan- kung 10	AIDS 17		
Zuweisung auf ICU					elektiv Chirur g.	medizinisch (ohne OP) 6		Notfall-OP 8		

Maßgeblich sind die *schlechtesten* Werte (höchste Punktzahl) in einem 24-Stunden-Zeitraum seit dem zur Intensiv-Aufnahme führenden Ereignis (Unfall, OP, Komplikation)

6.2 Glasgow Coma Scale

Tabelle 18. Glasgow Coma Scale [42]

Punkte	Augen öffnen	Verbale Reaktion	Motorische Reaktion
6	-	-	Befolgt Aufforderungen
5	-	Kommunikationsfähig, orientiert	Gezielte Schmerzabwehr
4	Spontan	Kommunikationsfähig, desorientiert	Ungezielte Schmerzabwehr
3	Auf Aufforderung	Unzusammenhängende Worte	Auf Schmerzreiz Beugeabwehr
2	Auf Schmerzreiz	Unverständliche Laute	Auf Schmerzreiz Strecksynergismen
1	Keine Reaktion	Keine Reaktion	Keine Reaktion

6.3 Sequential Organ Failure Assessment

Tabelle 19. Sequential Organ Failure Assessment [40]

SOFA-Score	1	2	3	4
Atmung PaO ₂ /FiO ₂ mmHg	<400	<300	<200 (mit Beatmung)	<100 (mit Beatmung)
Gerinnung Thrombozyten x10 ³ /mm ³	<150	<100	<50	<20
Leber Bilirubin (mg/dl)	1,2-1,9	2,0-5,9	6-9	<6
Herz/Kreislauf Hypotension	MAP<70mmHg	Dopamin <5 ¹ oder Dobutamin in jeglicher Dos. ¹	Dopamin >5 ¹ oder Epinephrin <0,1 oder Norepinephrin <0,1 ¹	Dopamin >15 ¹ oder Epinephrin >0,1 oder Norepinephrin >0,1 ¹
ZNS Glasgow- Coma- Scale	13-14	10-12	6-9	<6
Niere Kreatinin (mg/dl) oder renale Ausscheidung	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9 oder < 500 ml/Tag	>5,0 oder <200ml/Tag

¹Katecholamine, die für wenigstens 1 Stunde verabreicht wurden (Dosierung in µg/kg x min),
MAP= mittlerer arterieller Druck, PaO₂= arterieller Sauerstoff-Partialdruck, PaCO₂= arterieller
Kohlendioxid-Partialdruck,

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Verhältnis von SIRS und CARS.....	7
Abbildung 2. Schema der Erythropoese	14
Abbildung 3. Mortalität in % in Abhängigkeit vom SAPS	17
Abbildung 4. Zeitliche Kinetik der Entzündungsparameter im Vergleich	21
Abbildung 5. Darstellung eines XE-Scattergramms einer NRBC-negativen Patientenprobe	28
Abbildung 6. NRBC positive Patientenprobe mit sichtbarer NRBC-Population ...	28
Abbildung 7. Altersverteilung des Patientenkollektivs	30
Abbildung 8. Diagnosen der Non-Sepsis-Patienten	32
Abbildung 9. Diagnosen der Sepsis-Patienten	33
Abbildung 10. Boxplot-Diagramm der SAPS-Werte des Gesamtkollektivs	35
Abbildung 11. SOFA-Scorewerte bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten	37
Abbildung 12. SOFA-Scorewerte im Gruppenvergleich	38
Abbildung 13. MW der NRBC-Tagesgruppen des Gesamtkollektivs in Bezug auf die ICU-Mortalität.....	39
Abbildung 14. NRBC-Tagesgruppen im Gruppenvergleich	40
Abbildung 15 NRBC-Tagesgruppen der Überlebenden vs. Verstorbenen der Sepsisgruppe.....	41
Abbildung 16. CrP bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten	42
Abbildung 17. Leukozytenzahl bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten	43
Abbildung 18. IL-6 bei überlebenden vs. verstorbenen Patienten	43
Abbildung 19. CrP der Tagesgruppen Non-Sepsis- vs. Sepsis-Gruppe	44
Abbildung 20. Leukozytenanzahl der Non-Sepsis- vs. der Sepsis-Gruppe	45
Abbildung 21. IL-6 der Tagesgruppen Non-Sepsis- vs. Sepsis-Gruppe,.....	45
Abbildung 22. ROC-Kurven der NRBC-Tagesgruppen in Bezug auf die ICU- Mortalität.....	47
Abbildung 23. AUC-Werte der Infektionsparameter bzw. des SOFA-Scores in Bezug auf die ICU-Mortalität	47
Abbildung 24. AUC-Werte der Verlaufparameter in Bezug auf den Nachweis einer Sepsis.....	48

Abbildung 25. ROC-Kurven der NRBC-Tagesgruppen der Sepsis-Patienten in
Bezug auf die ICU-Mortalität49

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Erregerspektrum nach Brun-Bruisson.....	12
Tabelle 2. Übersicht über pro- und antiinflammatorische Mediatoren	23
Tabelle 3. Gruppeneinteilung des Patientenkollektivs	25
Tabelle 4. Demografie Patientenkollektivs in Bezug auf die ICU-Mortalität.....	31
Tabelle 5. Demografie des Patientenkollektivs nach Gruppen	32
Tabelle 6. Mediane des SAPS II-Scores des Gesamtkollektivs	35
Tabelle 7. SAPS II nach Gruppeneinteilung	36
Tabelle 8. Signifikanzen der der SOFA-Werte Überlebende vs. Verstorbene	37
Tabelle 9. Signifikanzen der SOFA-Werte im Gruppenvergleich.....	38
Tabelle 11. Signifikanzen der NRBC-Werte der Tagesgruppen Non-Sepsis-Gruppe vs. Sepsisgruppe	40
Tabelle 12. Kreuztabelle der NRBC-Werte in der Sepsisgruppe.....	41
Tabelle 13. Signifikanzniveaus der Verlaufparameter von überlebenden vs. verstorbene Pat.	42
Tabelle 14. Signifikanzniveaus der Verlaufparameter der Tagesgruppen im	44
Tabelle 15. AUC-Werte der Verlaufparameter in Bezug auf die ICU-Mortalität.	46
Tabelle 16. AUC-Werte der Verlaufparameter in Bezug auf die Gruppeneinteilung Non Sepsis vs. Sepsis	48
Tabelle 17. AUC-Werte der NRBC- vs. der SOFA-Tagesgruppen	49
Tabelle 18. SAPS nach Le Gall	57
Tabelle 19. Glasgow Coma Scale.....	59
Tabelle 20. Sequential Organ Failure Assesment	60

9 Literaturverzeichnis

1. Alberti, C., et al., *Influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients*. Am J Respir Crit Care Med, 2003. **168**(1): p. 77-84.
2. Nierhaus, A.e.a., *HLA-DR expression on human monocytes is predictive of the outcome but not the course of disease in sirs and sepsis*. Shock, 2000.
3. Ertel, W.e.a., *Downregulation of proinflammatory cytokine release in whole blood from septic patients blood*. 1995.
4. Adamik, B.e.a., *Immunological status of septic and trauma patients.II. Proliferative response and produktion of interleukin 6 and tumor necrosis faktor-alpha by peripheral monoclear cells from septic survivor, nonsurvivor and trauma patients : a correlation with the survival rate*. Immun and Therapy, 1997.
5. Wilson, B.e.a., *A convenient human whole blood culture system for studying the regulation of tumor necrosis factor alpha release by bacterial lipopolysaccharide*. Immunol. Methods, 1991.
6. Vincent, J.L., et al., *Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine*. Crit Care Med, 1998. **26**(11): p. 1793-800.
7. Stachon, A., T. Holland-Letz, and M. Krieg, *High in-hospital mortality of intensive care patients with nucleated red blood cells in blood*. Clin Chem Lab Med, 2004. **42**(8): p. 933-8.

8. Bone, R.C., W.J. Sibbald, and C.L. Sprung, *The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure*. Chest, 1992. **101**(6): p. 1481-3.
9. Levy, M.M., et al., *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Crit Care Med, 2003. **31**(4): p. 1250-6.
10. P. GIANNOUDIS, H.D., H. TZIOUPIS, C. KREETEK, H. PAPE, "Damage Control Orthopaedics" in the polytrauma patient.
11. Schottmüller, *Wesen der Sepsis*. 1914.
12. Reinhart, K., et al., *[Diagnosis and therapy of sepsis: guidelines of the German Sepsis Society Inc. and the German Interdisciplinary Society for Intensive and Emergency Medicine]*. Anaesthesist, 2006. **55 Suppl 1**: p. 43-56.
13. Brunkhorst, F.M., *[Epidemiology, economy and practice -- results of the German study on prevalence by the competence network sepsis (SepNet)]*. Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2006. **41**(1): p. 43-4.
14. Engel, C., et al., *Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study*. Intensive Care Med, 2007. **33**(4): p. 606-18.
15. Bochud, P.Y. and T. Calandra, *Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment*. Bmj, 2003. **326**(7383): p. 262-6.
16. Pannen, B.H. and J.L. Robotham, *The acute-phase response*. New Horiz, 1995. **3**(2): p. 183-97.
17. Riedemann, N.C., R.F. Guo, and P.A. Ward, *The enigma of sepsis*. J Clin Invest, 2003. **112**(4): p. 460-7.

18. Bateman, R.M., M.D. Sharpe, and C.G. Ellis, *Bench-to-bedside review: microvascular dysfunction in sepsis--hemodynamics, oxygen transport, and nitric oxide*. Crit Care, 2003. **7**(5): p. 359-73.
19. Reinhart, K., et al., *Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis*. Crit Care Med, 2002. **30**(5 Suppl): p. S302-12.
20. Klinzing, S., et al., *High-dose vasopressin is not superior to norepinephrine in septic shock*. Crit Care Med, 2003. **31**(11): p. 2646-50.
21. Opal, S.M. and C.T. Esmon, *Bench-to-bedside review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis*. Crit Care, 2003. **7**(1): p. 23-38.
22. Levi, M., E. de Jonge, and T. van der Poll, *New treatment strategies for disseminated intravascular coagulation based on current understanding of the pathophysiology*. Ann Med, 2004. **36**(1): p. 41-9.
23. Marshall, J.C., N.V. Christou, and J.L. Meakins, *The gastrointestinal tract. The "undrained abscess" of multiple organ failure*. Ann Surg, 1993. **218**(2): p. 111-9.
24. Brun-Buisson, C., F. Doyon, and J. Carlet, *Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. French Bacteremia-Sepsis Study Group*. Am J Respir Crit Care Med, 1996. **154**(3 Pt 1): p. 617-24.
25. Martin, G.S., et al., *The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000*. N Engl J Med, 2003. **348**(16): p. 1546-54.
26. Chen, H., et al., *[Identification of the origin of single nucleated red blood cells and free DNA in peripheral blood of pregnant women]*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2002. **82**(5): p. 318-21.

27. Junqueira, L.C., *Histologie*. 2002.
28. Heyworth, C.M., et al., *The role of hemopoietic growth factors in self-renewal and differentiation of IL-3-dependent multipotential stem cells*. *Growth Factors*, 1990. **2**(2-3): p. 197-211.
29. Ogawa, M., *Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells*. *Blood*, 1993. **81**(11): p. 2844-53.
30. Gerok, W., Huber, C., Meinertz, T., Zeidler, , *Schema der Erythropoese mit regulierenden Faktoren*. Die Innere Medizin Vol. 10. Auflage. 2000, Stuttgart: Schattauer Verlag 117-120.
31. Da Costa, J.C., *Practical Guide to the Examination of the Blood with Reference to Diagnosis*. 1901.
32. Schwartz, S.O. and F. Stansbury, *Significance of nucleated red blood cells in peripheral blood; analysis of 1,496 cases*. *J Am Med Assoc*, 1954. **154**(16): p. 1339-40.
33. Stachon, A., et al., *Daily monitoring of nucleated red blood cells in the blood of surgical intensive care patients*. *Clin Chim Acta*, 2006. **366**(1-2): p. 329-35.
34. Stachon, A., et al., *Association between nucleated red blood cells in blood and the levels of erythropoietin, interleukin 3, interleukin 6, and interleukin 12p70*. *Shock*, 2005. **24**(1): p. 34-9.
35. Knaus, W.A., et al., *APACHE-acute physiology and chronic health evaluation: a physiologically based classification system*. *Crit Care Med*, 1981. **9**(8): p. 591-7.
36. Knaus, W.A., et al., *APACHE II: a severity of disease classification system*. *Crit Care Med*, 1985. **13**(10): p. 818-29.

37. Le Gall, J.R., et al., *A simplified acute physiology score for ICU patients*. Crit Care Med, 1984. **12**(11): p. 975-7.
38. Le Gall, J.R., S. Lemeshow, and F. Saulnier, *A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study*. Jama, 1993. **270**(24): p. 2957-63.
39. Castella, X., et al., *A comparison of severity of illness scoring systems for intensive care unit patients: results of a multicenter, multinational study*. The European/North American Severity Study Group. Crit Care Med, 1995. **23**(8): p. 1327-35.
40. Vincent, J.L., et al., *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, 1996. **22**(7): p. 707-10.
41. Moreno, R. and P. Morais, *Outcome prediction in intensive care: results of a prospective, multicentre, Portuguese study*. Intensive Care Med, 1997. **23**(2): p. 177-86.
42. Teasdale, G. and B. Jennett, *Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale*. Lancet, 1974. **2**(7872): p. 81-4.
43. Ferreira, F.L., et al., *Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients*. Jama, 2001. **286**(14): p. 1754-8.
44. Antonelli, M., et al., *Application of SOFA score to trauma patients. Sequential Organ Failure Assessment*. Intensive Care Med, 1999. **25**(4): p. 389-94.
45. Rivers, E., *Early goal-directed-therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock*. New England Journal of Medicine, 2001.
46. Brunkhorst, F.M., *Aspekte zur Sepsis Diagnose*. 2002.

47. Simon, P., E.B. Milbrandt, and L.L. Emlet, *Procalcitonin-guided antibiotics in severe sepsis*. Crit Care, 2008. **12**(6): p. 309.
48. Reinhart, K., M. Meisner, and F.M. Brunkhorst, *Markers for sepsis diagnosis: what is useful?* Crit Care Clin, 2006. **22**(3): p. 503-19, ix-x.
49. Davis, B.H. and N.C. Bigelow, *Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis*. Lab Hematol, 2005. **11**(2): p. 137-47.
50. Davis, B.H., et al., *Neutrophil CD64 is an improved indicator of infection or sepsis in emergency department patients*. Arch Pathol Lab Med, 2006. **130**(5): p. 654-61.
51. Gabay, C. and I. Kushner, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation*. N Engl J Med, 1999. **340**(6): p. 448-54.
52. Brunkhorst, F.M., U. Heinz, and Z.F. Forycki, *Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis*. Intensive Care Med, 1998. **24**(8): p. 888-9.
53. Meisner, M., et al., *Comparison of procalcitonin (PCT) and C-reactive protein (CRP) plasma concentrations at different SOFA scores during the course of sepsis and MODS*. Crit Care, 1999. **3**(1): p. 45-50.
54. Ugarte, H., et al., *Procalcitonin used as a marker of infection in the intensive care unit*. Crit Care Med, 1999. **27**(3): p. 498-504.
55. Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K., Schiegel, W., Berdel, W. E., Böhm, M. and *Innere Medizin*. 2003: Urban und Fischer.
56. Reinhart, K., et al., *Assessment of the safety and efficacy of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody-fragment, MAK 195F, in patients with sepsis and septic shock: a multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study*. Crit Care Med, 1996. **24**(5): p. 733-42.

57. Castelli, G.P., et al., *Procalcitonin, C-reactive protein, white blood cells and SOFA score in ICU: diagnosis and monitoring of sepsis*. *Minerva Anesthesiol*, 2006. **72**(1-2): p. 69-80.
58. Walters, J., *Performance Evaluation of the Sysmex XE-2100 hematology analyser*. *Lab Hematol*, 2000. **6**: p. 83-92.
59. Stachon, A., et al., *Poor prognosis indicated by nucleated red blood cells in peripheral blood is not associated with organ failure of the liver or kidney*. *Clin Chem Lab Med*, 2006. **44**(8): p. 955-61.
60. Takarada, K., *Flow Cytometers-History and Measurement Principle*. *Sysmex Journal International*, 1996.
61. Sakata, T., *Regent Characteristics in the XE-2100 NRBC Channel*. *Sysmex Journal International*, 2000. **10 No.1.**, 2000.
62. Fujimoto, K., *Principles of Measurement in Hematology Analyzers*. 1999.
63. Stachon, A., et al., *Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality risk: a prospective cohort study*. *Crit Care*, 2007. **11**(3): p. R62.
64. Budmiger, H., C. Graf, and R.A. Streuli, *[The leukoerythroblastic blood picture. Incidence and clinical significance]*. *Schweiz Rundsch Med Prax*, 1984. **73**(48): p. 1489-93.
65. Burkett, L.L., M.L. Cox, and M.L. Fields, *Leukoerythroblastosis in the adult*. *Am J Clin Pathol*, 1965. **44**(5): p. 494-8.
66. Delsol, G., et al., *Leukoerythroblastosis and cancer frequency, prognosis, and physiopathologic significance*. *Cancer*, 1979. **44**(3): p. 1009-13.

67. Weick, J.K., A.B. Hagedorn, and J.W. Linman, *Leukoerythroblastosis. Diagnostic and prognostic significance*. Mayo Clin Proc, 1974. **49**(2): p. 110-3.
68. Stachon, A., et al., *Prognostic significance of the presence of erythroblasts in blood after cardiothoracic surgery*. Clin Chem Lab Med, 2001. **39**(3): p. 239-43.
69. Stachon, A., et al., *Making the case for adapting the abbreviated burn severity index to include erythroblast count*. J Wound Care, 2005. **14**(3): p. 97-100.
70. Beck, D.H., et al., *Prediction of outcome from intensive care: a prospective cohort study comparing Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II and III prognostic systems in a United Kingdom intensive care unit*. Crit Care Med, 1997. **25**(1): p. 9-15.
71. Sakr, Y., et al., *Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit: a marker of sepsis?* Crit Care Med, 2008. **36**(7): p. 2014-22.
72. Silvestre, J., et al., *Is C-reactive protein a good prognostic marker in septic patients?* Intensive Care Med, 2009. **35**(5): p. 909-13.
73. Sakr, Y., et al., *Time course and relationship between plasma selenium concentrations, systemic inflammatory response, sepsis, and multiorgan failure*. Br J Anaesth, 2007. **98**(6): p. 775-84.
74. Oberhoffer, M., et al., *Sensitivity and specificity of various markers of inflammation for the prediction of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in patients with sepsis*. Crit Care Med, 1999. **27**(9): p. 1814-8.
75. Gulati, G., et al., *An evaluation of the performance of Sysmex XE-2100 in enumerating nucleated red cells in peripheral blood*. Arch Pathol Lab Med, 2007. **131**(7): p. 1077-83.

76. Stamminger, G., et al., *Performance of the XE-2100 leucocyte differential*. Clin Lab Haematol, 2002. **24**(5): p. 271-80.
77. Lendemans, S., et al., [*Clinical course and prognostic significance of immunological and functional parameters after severe trauma*]. Unfallchirurg, 2004. **107**(3): p. 203-10.
78. Castelli, G.P., et al., *Procalcitonin and C-reactive protein during systemic inflammatory response syndrome, sepsis and organ dysfunction*. Crit Care, 2004. **8**(4): p. R234-42.
79. Patel, R.T., et al., *Interleukin 6 is a prognostic indicator of outcome in severe intra-abdominal sepsis*. Br J Surg, 1994. **81**(9): p. 1306-8.
80. Wakefield, C.H., et al., *Proinflammatory mediator activity, endogenous antagonists and the systemic inflammatory response in intra-abdominal sepsis*. Scottish Sepsis Intervention Group. Br J Surg, 1998. **85**(6): p. 818-25.
81. Moreno, R., et al., *The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study*. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. Intensive Care Med, 1999. **25**(7): p. 686-96.
82. Graf, J., C. Graf, and U. Janssens, *Analysis of resource use and cost-generating factors in a German medical intensive care unit employing the Therapeutic Intervention Scoring System (TISS-28)*. Intensive Care Med, 2002. **28**(3): p. 324-31.
83. Stachon, A., et al., *Nucleated red blood cells indicate high risk of in-hospital mortality*. J Lab Clin Med, 2002. **140**(6): p. 407-12.
84. Vreugdenhil, G., et al., *Anaemia of chronic disease: diagnostic significance of erythrocyte and serological parameters in iron deficient rheumatoid arthritis patients*. Br J Rheumatol, 1990. **29**(2): p. 105-10.

85. Michie, H.R., *Metabolism of sepsis and multiple organ failure*. World J Surg, 1996. **20**(4): p. 460-4.
86. Dellinger, *From the bench to the bedside: the future of sepsis research. Executive summary of an American College of Chest Physicians, National Institute of Allergy and Infectious Disease, and National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop*. Chest, 1997. **111**(3): p. 744-53.
87. Linden, P.K., et al., *The influence of clinical study design on cost-effectiveness projections for the treatment of gram-negative sepsis with human anti-endotoxin antibody*. J Crit Care, 1995. **10**(4): p. 154-64.
88. Brunkhorst, F.M., et al., *Procalcitonin, C-reactive protein and APACHE II score for risk evaluation in patients with severe pneumonia*. Clin Microbiol Infect, 2002. **8**(2): p. 93-100.
89. Castelli, G.P., et al., *Procalcitonin as a prognostic and diagnostic tool for septic complications after major trauma*. Crit Care Med, 2009. **37**(6): p. 1845-9.

10 Abkürzungsverzeichnis

ACCP	American College of Chest Physicians
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
AT III	Antithrombin III
AUC	Area Under the Curve
BE	Base Excess
CI	95 % Confidenz Intervall
CRP	C-reaktives Protein
DC	Direct Current
DIC	Disseminierte intravasale Gerinnung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESICM	European Society for Intensive Care Medicine
FiO ₂	Inspiratorischer Sauerstoffanteil
FSC	Forward Scattered Characteristics
G1/5/10	Gruppentag 1/5/10
GCS	Glasgow Coma Scale
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor
HICAST [®]	Hamburg Intensiv Care Scoring Tool [®]
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA-DR	Human Leukocyte Antigene DR 1
ICU	Intensive Care Unit
IG	Immature Granulocytes
Ig	Immunglobuline
IL-6/1/8	Interleukin-6/1/8
IMI	Immature Myeloid Information
INR	International Normalized Ratio
ITS	Intensivstation
Katechol.	Katecholamine
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LOS	Length Of Stay
LPS	Lipopolysaccharid

Max	Maximum
Min	Minimum
MODS	Multi Organ Dysfunction Syndrom
MOV	Multiorganversagen
MW	Mittelwert
NO	Stickoxid
NRBC	Nucleated Red Blood Cells
PaCO ₂	Kohlendioxid-Partialdruck
PaO ₂	arterieller Sauerstoff-Partialdruck
PCT	Procalcitonin
PE	Phycoerythrin
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
RF	Radio Frequency
RNA	Ribonukleinsäure
ROC	Receiver-operating Characteristics
SAA	Serum Amyloid A (Akute-Phase-Protein)
SAPS II	Simplified Acute Physiology Score II
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SD	Standardabweichung
SEM	Standard Error of Means
SFL	Seitwärtsfluoreszenz
SIRS	Systemisches Inflammatorisches Response-Syndrom
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment Score
SPSS®	Statistical Package for Social Science®
SSC	Sideward Scattered Characteristics
stat.	statistisch
syst.	systolisch
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
WBC	White Blood Cell Count
ZNS	Zentrales Nervensystem

11 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. med. G.Kreymann und PD Dr. med. S.Kluge für die freundliche Überlassung des Themas bedanken.

Mein Dank gilt Dr. med. Axel Nierhaus für die unermüdliche Betreuung sowie seine Hilfe bei der Erstellung und Korrektur der Arbeit.

Ebenso herzlich möchte ich mich bei Dr. med. Barbara Montag sowie Susanne Finze für die ihre Unterstützung in statistischen Angelegenheiten bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Nina Eismann.

Ganz besonders danke ich meiner Familie und Nicole für Ihren Zuspruch, Geduld und Motivation in besonderer Form.

12 Lebenslauf

Vorname: Jörg
Nachname: Hedke
Geburtsdatum: 16. September 1978
Geburtsort: Solingen
Familienstand: ledig
Nationalität: deutsch

Schulbildung: 1985-89 Grundschule Weyer
1989-98 Humboldt Gymnasium Solingen

Hochschulstudium: 2001-2008 Studium der Humanmedizin an der
Universität Hamburg
2004 Erster Abschnitt der ärztl. Prüfung
2008 Zweiter Abschnitt der ärztl. Prüfung
2008 Approbation

Berufstätigkeit:

09/08-07/11 Assistenzarzt der Klinik
und Poliklinik für Orthopädie
Universitätsklinikum Rostock

seit 08/11 Assistenzarzt der
Abteilung für Unfallchirurgie
Berufsgenossenschaftliches
Unfallkrankenhaus Hamburg-Boberg

13 Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig 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.

Jörg Hedke

September 2011