

Aus der Klinik für Allgemeine, Viszeral- und Transplantationschirurgie

Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. med. Jens Werner

**FRÜHERKENNUNG INFEKTIÖSER KOMPLIKATIONEN NACH
KOLOREKTALEN EINGRIFFEN DURCH DIE PERIOPERATIVE
ANWENDUNG EINES MULTIDIMENSIONALEN
IMMUNOINFLAMMATORISCHEN MONITORINGSYSTEMS**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Alena Sint

aus

Villach

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. E. Faist
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. med. Michael S. Kasperek Priv.-Doz. Dr. med. Johann Spatz
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Priv.-Doz. Dr. med. T. Schiergens
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung:	31.01.2019

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1.	THEORETISCHE GRUNDLAGEN	3
1.1.	Kolorektale Eingriffe in der Viszeralchirurgie	3
1.1.1.	Anatomie und Funktion des kolorektalen Darmabschnittes	3
1.1.2.	Enterale Anastomosen	4
1.1.3.	Aktuelle Techniken der Anastomisierung	4
1.2.	Postoperative Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen	5
1.2.1.	Intraabdominale septische Komplikationen	6
1.2.2.	Anastomoseninsuffizienz	7
1.3.	Immunmarker	10
1.3.1.	Klinisch etablierte Entzündungsmarker	11
1.3.2.	Innovative experimentelle Entzündungsmarker	13
2.	FRAGESTELLUNG	17
	PATIENTEN, MATERIAL & METHODEN	18
2.1.	Patienten & Studienablauf	18
2.1.1.	Einschlusskriterien	18
2.1.2.	Ausschlusskriterien	18
2.1.3.	Diagnosekriterien	18
2.1.4.	Patienteneinschluss	18
2.1.5.	Studiendesign und Votum der Ethikkommission	19
2.1.6.	Studienablauf	19
2.2.	Materialien & Geräte	20
2.2.1.	Geräte	20
2.2.2.	Verbrauchsmaterialien	20
2.2.3.	Chemikalien	21
2.2.4.	Antikörperkonjugate	21
2.3.	Methoden	22
2.3.1.	Durchführung der Blutentnahme und Verarbeitung der Blutproben	22
2.3.2.	Gewinnung des Blutplasmas und Blutserums	22
2.3.3.	Funktionsprinzip der Endotoxin-Messung	22
2.3.4.	Durchführung des <i>Endotoxin Acitivity Assay™</i>	23
2.3.5.	Oberflächenphänotypisierung humaner Blutzellen im FACS	25
2.3.6.	Durchführung der FACS - Analyse	27
2.3.7.	Statistische Auswertung	28
3.	ERGEBNISSE	32
3.1.	Klinische und operative Patientencharakteristika	32
3.2.	Klinisch etablierte Entzündungsmarker	33
3.2.1.	Leukozytenzahl	33

3.2.2.	CRP	38
3.2.3.	PCT	43
3.2.4.	Boxplotsdarstellung der klinisch etablierten Marker	47
3.3.	Innovative experimentelle Entzündungsmarker	49
3.3.1.	IL-6	49
3.3.2.	mHLA-DR-Expression	53
3.3.3.	Endotoxin	56
3.3.4.	Boxplotdarstellung der innovativen experimentellen Marker	59
3.3.5.	Sensitivität, Spezifität, NPV und PPV der analysierten Marker	61
4.	DISKUSSION	64
4.1.	Wertigkeit der klinisch etablierten Entzündungsmarker	65
4.2.	Wertigkeit der innovativen experimentelle Entzündungsmarker	74
4.3.	Wertigkeit des CRP, IL-6 und der mHLA-DR-Expression im Vergleich	80
4.4.	Limitationen der Studie	82
5.	ZUSAMMENFASSUNG	85
6.	TABELLENVERZEICHNIS	87
7.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	89
8.	LITERATURVERZEICHNIS	92
9.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	99
10.	DANKSAGUNG	101
11.	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	102

1. THEORETISCHE GRUNDLAGEN

1.1. Kolorektale Eingriffe in der Viszeralchirurgie

Resektionen des Kolons und Rektums sind bei zahlreichen benignen und malignen Krankheiten wie Colitis ulcerosa, Morbus Crohn, Divertikulitis, Darmverschluss und kolorektalen Karzinomen indiziert und stellen einen relevanten Anteil viszeralchirurgischer Eingriffe dar. Dabei resultieren die resezierenden Verfahren meistens in einer mehr oder weniger ausgedehnten Rekonstruktion des Gastrointestinaltraktes, beim Großteil der Resektion erfolgt die Rekonstruktion durch Verbindung der durch die Entfernung entstandenen Darmenden, einer Anastomose. Auch bei Verletzungen, Ischämie des Kolons und Rektums sowie proktologischen Krankheitsbildern kann die Notwendigkeit einer Darmresektion bestehen.

Im Jahr 2017 wurden im Klinikum Großhadern 2575 abdominalchirurgische Eingriffe durchgeführt. Davon entfielen 866 auf kolorektale Operationen. Dies entspricht in etwa 34% aller durchgeführten abdominalchirurgischen Eingriffe. Die kolorektale Chirurgie nimmt in der Klinik über 8% aller Eingriffe ein, und dies reflektiert die medizinische und ökonomische Bedeutsamkeit dieses chirurgischen Fachbereiches und der damit verbundenen Morbidität der Patienten.

1.1.1. Anatomie und Funktion des kolorektalen Darmabschnittes

Der Dickdarm wird von Caecum samt Appendix vermiformis, Kolon (Colon ascendens, Colon transversum, Colon descendens, Colon sigmoideum) sowie Rektum und Analkanal gebildet und umfasst mehrere anatomisch unterschiedliche peritoneale Zugehörigkeiten. Während Colon ascendens und descendens sekundär retroperitoneal, Colon transversum und Sigmoid intraperitoneal lokalisiert sind, liegen Caecum und Rektum retro- bzw. extraperitoneal.

Die Gefäßversorgung erfolgt größtenteils über zwei Äste der Aorta abdominalis. Die A. mesenterica superior sowie die A. mesenterica inferior. Die beiden Gefäße stehen über die Riolan-Anastomose - via A. colica sinistra - in Verbindung und garantieren somit die ausreichende Blutversorgung des kolorektalen Darmabschnittes. Die Innervation erfolgt bis zum Cannon-Böhm Punkt (etwa nach zwei Drittel des Colon transversum) durch den N. vagus und wird dann vom Plexus sacralis übernommen [1, 2].

Primäre Funktion des Dickdarms ist die Resorption von Wasser. Während der Passage des Darminhalts wird dieser auf etwa ein Drittel bis ein Viertel seines Volumens eingedickt. Weitere wesentliche Funktionen sind die Resorption von Kohlenhydraten, Aminosäuren und

jedoch nur an frei beweglichen Darmabschnitten eingesetzt werden und birgt bei Mangel an Erfahrung die Gefahr einer zu locker oder straff genähten Anastomose [5].

Eine Alternative zur Handnaht, die insbesondere in der laparoskopischen Chirurgie sowie bei Anastomosen im Rektumbereich (zirkuläre Klammernahtgeräte) Anwendung findet, ist die Verwendung eines Klammernahtgerätes (*Staplers*). Mit Hilfe von zirkulär angeordneten Edelstahlklammern wird eine regelmäßige Klammernaht erstellt. Die instrumentelle Klammernaht hat den Vorteil, dass sie standardisiert ist und somit möglicherweise unabhängiger von der Erfahrung des Operateurs ist. Darüberhinaus begünstigt diese Technik potentiell die gleichmäßige Durchblutung der Darmenden durch geringere Traumatisierung des Gewebes im Bereich der Anastomose [6].

Letztendlich ist die Wahl der Anastomosentechnik abhängig von der klinischen Situation, der vorliegenden Gewebequalität sowie bei letztlich nicht klarer Empfehlung einer Technik bei fehlender Evidenz Entscheidung des Operateurs. Sie obliegt auch nicht zuletzt dem örtlichen Standard. Oberste Priorität ist es, eine ungestörte Wundheilung zu erreichen und ein bestmögliches funktionelles Ergebnis zu erhalten. Dies wird durch Spannungsfreiheit und gute Durchblutung im Wesentlichen bestimmt [7]. Tabelle 1 stellt die in der Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Transplantationschirurgie des Klinikums der Universität München zum Studienzeitpunkt sowie auch aktuell auf Boden der aktuellen Evidenz und internationalen Standards etablierten und durchgeführten Anastomosentechniken dar.

Anwendungsort der Naht	Anastomosentechnik	
Kolon und rektosigmoidealer Übergang	Fortlaufende, zweireihige Seit-zu-End oder Seit-zu-Seit Anastomose	
Rektum	Seit-zu-End Anastomose mit zirkulärem Klammernahtgerät (sog. Double-Stapling-Anastomose)	
Koloanale Anastomose	Transanale, allschichtige Einzelknopfnah	

Tabelle 1: Standards der angewendeten Anastomosentechniken

1.2. Postoperative Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen

Mehr als 230 Millionen Menschen pro Jahr unterziehen sich weltweit chirurgischen Eingriffen. Die Mehrzahl der Eingriffe sind durch ein eher geringes Operationsrisiko

charakterisiert, dennoch nehmen postoperative Komplikationen in der operativen Medizin einen großen Stellenwert als Todesursache ein [8].

Im Jahr 2010 wurden deutschlandweit über 126 000 Operationen an Kolon und Rektum durchgeführt [9]. Postoperative Komplikationen stellen dabei auch heute noch ein wesentliches Problem dar. Die Morbidität und Mortalität nach durchgeführtem kolorektalen Eingriff erscheint in der Literatur mit einer Häufigkeit zwischen 5 und 40%, je nach Art des Eingriffs und Charakteristik des untersuchten Patientenguts [10].

1.2.1. Intraabdominale septische Komplikationen

Zu den häufigsten und bedrohlichsten Komplikationen nach kolorektal-chirurgischen Eingriffen zählen infektiöse Komplikationen [11]. Dazu gehören chirurgische Wundinfektionen (SSI, *Surgical Site Infection*), sowie intraabdominale Abszesse und die Anastomoseninsuffizienz. Diese stehen nicht selten intraindividuell im Zusammenhang. Die Anastomoseninsuffizienz stellt als häufige Ursache einer Peritonitis und Sepsis eine gravierende Komplikation mit oft schwerwiegenden Folgen für die Patienten dar [12]. Diese Komplikationen haben unterschiedlich ausgeprägten Einfluss auf das Outcome der Patienten und bedürfen daher einer frühzeitigen und akkuraten Diagnose. Bereits mehrfach wurde festgestellt, dass sich intraabdominale septische Komplikationen negativ auf das kurzfristige Überleben auswirken und die Mortalität innerhalb der ersten 30 Tage nach Eingriff signifikant erhöht ist [13, 14]. Auch das langfristige Überleben zeigt sich nach Anastomoseninsuffizienz vermindert [15]. Der Effekt von Anastomoseninsuffizienzen auf das onkologische Outcome äußert sich sowohl in einer signifikant höheren lokalen Rezidivrate als auch in einem geringeren krankheitsfreien Überleben [16-19]. Bei frühzeitiger Diagnosestellung kann die komplikationsbedingte Letalitätsrate vor allem durch die zeitgerechte Einleitung einer Antibiotikatherapie sowie invasive Maßnahmen (Revisionseingriff, interventionelle Therapie) reduziert werden [20]. Es wurde gezeigt, dass die Letalitätsrate bei elektiven intraabdominalen Eingriffen bei inadäquatem, verzögertem Beginn der Antibiotikatherapie auf bis zu 45% ansteigen kann, während sie bei zeitgerechter Verabreichung des Antibiotikums bei nur 16% liegt [21]. Der zeitnahe Beginn einer effektiven Antibiose resultiert in einer signifikanten Reduktion von Morbidität und Mortalität [22, 23].

1.2.1.1. Chirurgische Wundinfektion

Chirurgische Wundinfektionen (*Surgical Site Infection*) treten bei offener kolorektaler Chirurgie in 2-25% der Fälle auf und sind mit Risikofaktoren wie BMI > 30, perioperativer Transfusion, männlichem Geschlecht, ASA-Score > III und fäkaler Wundkontamination assoziiert [24, 25]. Auch wenn sie eher selten lebensbedrohlich sind, stellen sie durch erhöhte Kosten und verlängerter Krankenhausaufenthaltsdauer eine nicht zu

vernachlässigende Komplikation dar [26]. Wundinfektionen treten um den 9. – 10. postoperativen Tag auf und werden durch Wiedereröffnung der abdominalen Wunde, lokaler Wundversorgung und ggf. Antibiotikatherapie therapiert [26, 27].

1.2.1.2. Intraabdominaler Abszess

Die Entstehung von intraabdominalen Abszessen hängt primär von der Krankheitsursache ab und wird durch krankheitsunabhängige Faktoren (z.B. Alter, Allgemeinzustand, Immunitätslage) beeinflusst. Intraabdominale Abszesse entstehen in erster Linie in Folge von präexistierenden Infektionen oder durch Austreten von Darminhalt während oder nach der Operation (z.B. bei Anastomoseninsuffizienz). Unter sonographischer und/oder CT-Kontrolle können intraabdominale Abszesse punktiert und über eine Drainage wirksam entlastet werden [28].

1.2.2. Anastomoseninsuffizienz

Hauptgrund für das Auftreten von postoperativen intraabdominalen septischen Komplikationen ist die Anastomoseninsuffizienz. Sie stellt die schwerwiegendste Komplikation im postoperativen Verlauf dar.

1.2.2.1. Definition

Die Anastomoseninsuffizienz ist definiert als vollständiger Wanddefekt des Intestinums oder Kolorektums im Bereich einer chirurgischen Naht mit der Folge, dass intra- und extraluminaler Raum miteinander kommunizieren [5]. Jeder Flüssigkeitsaustritt nach extraluminal im Bereich der neu geschaffenen Verbindung, der zu lokaler Entzündung führt, ist definitionsgemäß als Anastomoseninsuffizienz zu bezeichnen [29].

1.2.2.2. Inzidenz und Mortalität

Die Anastomoseninsuffizienz ist die häufigste und gleichzeitig die am meisten gefürchtete Komplikation nach einem kolorektalen Eingriff. Sie stellt eine deutliche Belastung für den Patienten und den verantwortlichen Chirurgen im postoperativen Verlauf dar [30]. Trotz verbesserter OP-Techniken, instrumentellem Fortschritt und aller chirurgischer Sorgfalt ist die Zahl an Nahtinsuffizienzen immer noch hoch (Tabelle 2) [31]. Tabelle 2 zeigt eine Literaturübersicht über die Rate an Anastomoseninsuffizienzen verschiedener prospektiver Studien, welche Patienten einschlossen, die in der Zeit von 1990 bis 2008 eine Rektumresektion mit anschließender kolorektaler Anastomose erhielten. Die Konsequenzen einer Nahtinsuffizienz können verheerend sein. Die Mortalität nach Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz liegt bei 19 – 33% [32].

Den nachhaltigen Einfluss einer Anastomoseninsuffizienz auf das OP-Ergebnis illustrierten Fielding et al. bereits 1980. In einer Studie mit 1446 Patienten, die sich einem kolorektalen

Eingriff unterzogen, lag die Mortalität in der Gruppe ohne Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz bei 7,1%. Im Gegensatz dazu war die Letalitätsrate in der Vergleichsgruppe mit Insuffizienz mehr als dreimal so hoch. Zweiundzwanzig Prozent der Patienten verstarben infolge einer Nahtinsuffizienz [33].

Studie	Jahr	Gesamtpatientenzahl	Insuffizienzrate	Mortalität
Walker, et al. [34]	2004	n=1722	1,6% (n=27)	n.a.
Kube, et al. [35]	2010	n=28271	3,0% (n=844)	18,7% (n=157)
McArdle, et al. [14]	2005	n=2235	3,8% (n=86)	16% (n=14)
Manilich, et al. [36]	2012	n=3553	3,8% (n=80)	n.a.
Krarup, et al. [37]	2014	n=9333	6,4% (n=593)	29,2%(n=173)
Bakker, et al. [38]	2013	n=15667	7,5% (n=1176)	29,8% (n=193)
Fielding, et al. [33]	1980	n=1466	13% (n=191)	22% (n=42)

Tabelle 2: Literaturübersicht prospektiver Studien über die Rate an Anastomoseninsuffizienzen sowie über die Mortalität nach Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz. Eingeschlossen wurden Patienten die eine Rektumresektion mit folgender Anlage einer kolorektalen Anastomose erhielten.

1.2.2.3. Risikofaktoren

Anastomoseninsuffizienz nach kolorektalen Eingriffen ist führend als Ursache für das postoperative Versterben und stellt den größten Risikofaktor dar, dass ein permanentes Stoma angelegt werden muss [39]. Die zugrundeliegenden Risikofaktoren für das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz sind vielfältig. Trotz umfangreicher Studien zur Analyse von Risikofaktoren und präventiven Maßnahmen ist die Inzidenz in den letzten Jahrzehnten gleichbleibend hoch. Daher kommt wiederum der frühzeitigen Diagnose und adäquaten Therapie eine relevante Bedeutung zu.

Das Risiko einer Insuffizienz ist vor allem abhängig von der Höhe (Abstand der frisch genähten Anastomose vom analen Rand) der angelegten Anastomose [40]. Die meisten Studien haben gezeigt, dass dies den wichtigsten prädiktiven Faktor für das Auftreten einer Insuffizienz darstellt. Dünndarm und ileokolische Anastomosen haben mit 1 – 3% die geringste Insuffizienzrate. Die höchste Rate findet man bei koloanalen, also sehr tief angelegten Anastomosen. Das Risiko, nach einer tiefen anterioren Resektion des Rektums (TAR) eine Anastomoseninsuffizienz zu erleiden, liegt bei bis zu 23% und ist damit führend in der Häufigkeit [39, 41-45].

Neben der Höhe der Anastomose zählen männliches Geschlecht, vorausgegangene abdominale Eingriffe, chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED), sehr lange Operationszeit, Vorliegen eines Rektumkarzinoms mit einem Abstand von ≤ 12 Zentimeter vom analen Rand, ASA Score $> III$, Patientenalter (≥ 75 Jahre) und die Art des chirurgischen

Eingriffes zu den Hauptrisikofaktoren [42]. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass insbesondere Patienten nach neoadjuvanter Strahlentherapie mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz behaftet sind [43, 44, 46].

Eine Vielzahl von Studien hat weitere Risikofaktoren aufgezeigt, die potenziell negativen Einfluss auf die Sicherheit einer Anastomose haben [38, 44, 47-50]. Diese werden nachfolgend in Tabelle 3 aufgeführt.

Potenzielle Risikofaktoren für eine Anastomoseninsuffizienz	
Systemische Einflussfaktoren	Schlechter Ernährungsstatus Massiver Blutverlust Sepsis Ileus Notfall-Eingriff
Lokale Einflussfaktoren	Einsatz von Lokalanästhetika Gewebequalität von Omentum und Peritoneum Präoperatives Vorliegen eines protektiven Stomas
Operateur-assoziierte Faktoren	Mangelnde Erfahrung Schlechte Nahttechnik Falsche intraoperative Beurteilung

Tabelle 3: Potenzielle Risikofaktoren für eine Anastomoseninsuffizienz [39-44, 46-50]

1.2.2.4. Klinisches Bild

Das klinische Bild einer Anastomoseninsuffizienz stellt sich sehr variabel dar. Abhängig davon, ob die Leckage durch Gewebe gedeckt ist und ob eine Kontamination der Bauchhöhle vorliegt, können die vorliegenden Symptome stark variieren [11]. Eine Veränderung des austretenden Sekretes der intraoperativ im Anastomosenbereich eingebrachten Drainage liefert den augenscheinlichen Hinweis für das Vorliegen einer Anastomoseninsuffizienz. Nichtsdestotrotz geben primär klinische Zeichen wie zunehmende Bauchschmerzen und Fieber Indiz auf eine mögliche Leckage der angelegten Anastomose. Grundsätzlich sollte bei jedem Patienten, der postoperativ Symptome wie Fieber, Hypotonie, Tachykardie, Tachypnoe oder Bewusstseinsintrübung bis hin zur Somnolenz aufweist, eine Anastomoseninsuffizienz ursächlich ausgeschlossen werden. Auch eine generelle Verschlechterung des Allgemeinzustandes, Darmparalyse und klinische Zeichen einer Peritonitis sollten als potentielle Indikatoren einer aufgetretenen Insuffizienz der Anastomose angesehen und ernst genommen werden. Allerdings wird sowohl im klinischen Alltag als

auch in Studien beobachtet, dass klinische Parameter unzuverlässige und späte Indikatoren darstellen [51, 52]. Neben klinischen Parametern geben auch pathologische laborchemische Veränderungen Hinweis auf eine mögliche Leckage.

1.2.2.5. Diagnostik

Bei jeglicher Abweichung des postoperativen klinischen Verlaufes von der Norm sollte eine Anastomoseninsuffizienz als Ursache ausgeschlossen und eine diagnostische Abklärung erfolgen. Neben der Beurteilung des klinischen Befindens und der laborchemischen Kontrolle der Entzündungsparameter stellt der nächste Schritt eine Schnittbildgebung ggf. in Kombination mit einer endoskopischen Kontrolle der angelegten Naht dar. Hierbei lassen sich mutmaßliche Dehiszenzen und Ischämien der Schleimhaut sowie die septischen Folgen wie Austritt von Darminhalt und Luft nach intraabdominal sowie Peritonitis und Abszedierung darstellen. Mit einer Sensitivität von 89% stellt die Computertomographie mit wasserlöslichem Kontrastmittel die zuverlässigste diagnostische Methode zur Detektion der Anastomoseninsuffizienz dar.

1.2.2.6. Therapie

In Abhängigkeit der vorliegenden klinischen Situation bestehen unterschiedliche Therapieoptionen bei Anastomoseninsuffizienz [20, 53, 54]. Gemeinsames therapeutisches Ziel aller Optionen ist, die Kontamination des Operationsgebietes zu vermeiden, das Auftreten einer Sepsis zu verhindern und falls möglich den Verschluss der Insuffizienz mit Funktionserhalt des betroffenen Darmabschnittes zu gewährleisten. Gedeckte Insuffizienzen ohne Vorliegen einer Sepsis können konservativ oder endoskopisch bzw. interventionell therapiert werden. In der endoskopischen Therapie sind unterschiedliche Verfahren wie die Endo-Sponge-Therapie, die submuköse Injektion von Fibrinkleber sowie das Anwenden von Clips etabliert [53]. Insbesondere die Schwammtherapie scheint erfolgsversprechend zu sein. Durch Stimulation der Bildung von Granulationsgewebe kann eine beschleunigte Wundheilung und somit eine verkürzte Liegedauer erreicht werden. Endoskopisches Clipping sowie die Injektion von Fibrinkleber stellen bei der Anastomoseninsuffizienz aufgrund der vorliegenden meist schlechten Gewebeverhältnisse limitierte Therapieoptionen dar. Bei klinischen Zeichen einer Sepsis, nekrotischen Darmabschnitten oder technischem Versagen der Anastomose ist ein chirurgisches Vorgehen indiziert. Fokussanierung durch Reanastomisierung mit oder ohne protektivem Stoma und die Diskontinuitätsresektion (Hartmann-Operation) repräsentieren dabei die therapeutischen Optionen [11].

1.3. Immunmarker

Aufgrund der geringen Aussagekraft klinischer Symptome ist die Suche nach Biomarkern die das Vorliegen einer postoperativen septischen Komplikationen frühzeitig anzeigen von

großem Interesse. Ein Biomarker ist definiert als ein Parameter, der objektiv als ein Indikator eines pathogenetischen Prozesses gemessen werden kann. Die Idealkonstellation eines Markers liegt vor, wenn dieser isoliert bereits vor dem Auftreten klinischer, häufig unspezifischer, Symptome signifikant ansteigt und zudem prognostische Aussagekraft bezüglich des weiteren Krankheitsverlaufes und Outcome besitzt. Der Marker sollte, neben hoher diagnostischer Sicherheit, auch ökonomische Faktoren berücksichtigen. Um die Etablierung eines Biomarker in der klinischen Routine zu ermöglichen, ist eine schnelle und kostengünstige Bestimmungsmethode notwendig.

In den letzten Jahren wurden insgesamt 24 Studien durchgeführt, die unterschiedliche, systemische Marker auf ihre diagnostische Wertigkeit hinsichtlich der frühzeitigen Detektion von infektiösen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz nach kolorektalen Eingriffen untersuchten [51]. Der Fokus der Studien lag dabei in der Analyse von unspezifischen systemischen Markern einer Entzündung. Die Identifikation eines Serum-Markers, der das frühzeitige Aufzeigen einer postoperativen septischen Komplikation ermöglicht, wäre sowohl für Patienten als auch für den behandelnden Chirurgen ein enormer Benefit.

Das folgende Kapitel gibt eine Übersicht über die in der vorliegenden Studie untersuchten Serum-Marker.

1.3.1. Klinisch etablierte Entzündungsmarker

1.3.1.1. Leukozytenzahl

Die Bestimmung der Leukozytenzahl im Blut zählt zu den ältesten laborchemischen Indikatoren einer Entzündung und einer Infektion. Sie dient der Diagnostik sowie der Therapiekontrolle von Infektionen und Entzündungen jeglicher Genese. Da die Leukozytenzahl durch zahlreiche Störvariablen (Malignome, Stoffwechselstörungen, Operationstrauma) beeinflusst wird und erheblichen intraindividuellen Schwankungen unterliegt, ist die isolierte Betrachtung dieses Markers in Bezug auf die Detektion postoperativer infektiöser Komplikationen nur wenig aussagekräftig [55]. Bisher existieren nur wenige Studien, welche die peri- bzw. postoperative Dynamik des Entzündungsmarkers untersuchen. Verkkala zeigte in einer 1987 durchgeführten Studie an 153 Patienten, dass postoperative Infektionen mit erhöhten, normwertigen oder erniedrigten Leukozytenzahlen einhergehen können [56]. Auch nach kolorektaler Chirurgie scheint die Bestimmung der Leukozytenzahl ein unzuverlässiger Indikator eines vorliegenden inflammatorischen Prozesses zu sein. Beschrieben wurde dies durch eine im Jahr 2016 durchgeführte Übersichtsarbeit [51].

1.3.1.2. C-reaktives Protein

C-reaktives Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein und wurde erstmals im Jahr 1930 durch Tillet und Francis beschrieben [57]. Es zählt zu der Familie der kurzen Pentraxine, deren gemeinsames Merkmal eine zyklische, pentamere Struktur, Sequenzhomologie und Kalzium-abhängige Liganden-Bindung ist [58]. Seinen Namen erhielt der Marker aufgrund seiner Eigenschaft, mit dem somatischen C-Polysaccharid der Zellwand des Erregers *Streptococcus pneumoniae* zu präzipitieren [59].

CRP nimmt als Aktivator des Komplementweges eine grundlegende Rolle im angeborenen Immunsystem ein. Es bindet Phosphocholin und initiiert auf diese Weise die Phagozytose fremder und geschädigter Zellen [60]. CRP wird von Hepatozyten stimuliert durch proinflammatorische Zytokine, insbesondere Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-1 (IL-1) und Tumor-Nekrosefaktor α (TNF α), als Antwort auf eine Entzündung oder Gewebsschaden synthetisiert [58].

Wie viele Akute-Phase-Proteine ist CRP auch bei Gesunden immer im Blutserum nachweisbar. Im Rahmen von Entzündungsgeschehen kommt es jedoch zu einem rapiden und ausgeprägten Anstieg. Bei gesunden, jungen Individuen liegt der Serumgehalt bei circa 0,8 mg/L. Als Reaktion auf ein entzündliches Geschehen kommt es beginnend nach 6 Stunden zu einem Anstieg des CRP-Spiegels, welcher nach etwa 48 Stunden sein Maximum erreicht. Es können Spitzenwerte von bis zu 400 mg/dl erreicht werden [61]. Dies stellt das 10 000- fache der ursprünglichen Konzentration dar. Die Plasmahalbwertszeit von CRP ist konstant und beträgt sowohl unter gesunden Bedingungen als auch bei Vorliegen von Entzündung und Krankheit 19 Stunden. Aufgrund der kurzen Plasmahalbwertszeit entspricht die Plasmakonzentration der Syntheserate des Akute-Phase-Proteins. Als einzige Determinante spiegelt die Plasma-CRP-Konzentration somit die Intensität des vorliegenden pathologischen Prozesses direkt wieder [59]. Nach Wegfall des Stimulus einer erhöhten CRP-Produktion fällt der Serum-Spiegel rasch wieder ab.

1.3.1.3. Procalcitonin

Procalcitonin (PCT) wurde erstmals 1984 als ein 116-Aminosäuren-Protein mit einer Masse von 14 kDa beschrieben [62]. Es stellt den Vorläufer des Hormons Calcitonin dar, das normalerweise von den C-Zellen der Schilddrüse als Reaktion auf eine Hyperkalzämie synthetisiert wird. PCT besteht aus 3 Fragmenten: KC (Katacalcin), CT (Calcitonin) und dem N-terminalen Fragment. Es wird durch eine spezifische Protease gespalten.

Der genaue Mechanismus der entzündungsabhängigen PCT-Produktion ist noch nicht vollständig verstanden. Studien haben gezeigt, dass PCT auch bei thyreoidektomierten Patienten mit schwerer Entzündung und Sepsis erhöht ist. Demzufolge muss die Schilddrüse

als isolierter Bildungsort ausgeschlossen werden [63]. Es wird postuliert, dass PCT durch Entzündungsaktivität getriggert sowohl in der Leber als auch von peripheren mononukleären Blutzellen (PBMCs) sezerniert und von Lipopolysacchariden und proinflammatorischen Zytokinen reguliert wird [64].

Die Halbwertszeit von PCT liegt bei 25 – 30 Stunden. Unter physiologischen Bedingungen zeigen sich Plasmakonzentrationen unter 0,5 ng/ml. Im Rahmen schwerer Infektionen und Sepsis ist ein Anstieg auf das über 10 000-fache möglich. Der Anstieg der PCT-Plasmakonzentration in Patienten mit Sepsis korreliert mit der Mortalität sowie mit dem Aktivitätsgrad der Entzündung [65-68]. Studien haben gezeigt, dass Lipopolysaccharid (LPS, Endotoxin), ein Bestandteil gram-negativer Bakterien, ein potenter Trigger der PCT-Freisetzung ist [68]. Demzufolge ist PCT ein potentiell wichtiger diagnostischer Marker bei systemischen bakteriellen Entzündungen und findet im klinischen Alltag Anwendung als Verlaufsparemeter bei Patienten mit schwerer Entzündung und Sepsis. Darüber hinaus zeigte PCT im Vergleich zu CRP in Studien eine höhere Sensitivität und Spezifität für bakterielle Infektionen [69-71].

1.3.2. Innovative experimentelle Entzündungsmarker

1.3.2.1. HLA-DR

Das humane Leukozyten-Antigen-DR (HLA-DR) ist ein Haupthistokompatibilitätskomplex (*Major Histocompatibility Complex*, MHC)-Klasse II Oberflächenantigen, das am kurzen Arm des Chromosoms 6 vom HLA-Komplex kodiert wird. Der ausgeprägte Polymorphismus in der genetischen Kodierung der HLA-Moleküle ist verantwortlich für die große Zahl an HLA-Phänotypen. Aus dieser großen Variabilität resultiert die individuelle Dynamik des Immunsystems, auf verschiedene Antigene unterschiedlich stark zu reagieren. HLA-DR spielt damit mutmaßlich eine Rolle in der von Mensch zu Mensch variierenden Anfälligkeit für Infektionskrankheiten und scheint ferner für autoimmune Funktionsstörungen mitverantwortlich zu sein [72].

Die Glykoproteinmoleküle werden auf der Oberfläche von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen konstitutiv exprimiert und unterliegen der primären Funktion der Antigenpräsentation. Durch Phagozytose aufgenommene Antigene werden mit Hilfe des HLA-DR präsentiert und von *Cluster of differentiation 4+* (CD4+) T-Helferzellen erkannt und gebunden. Dadurch erfolgt eine Aktivierung weiterer Effektorzellen und eine spezifische Immunantwort wird ausgelöst.

Der HLA-DR-Wert gibt als Surrogatmarker Information über die individuelle zelluläre Immunkompetenz eines Patienten. Er ist Ausdruck einer infektionsbedingten Immunsuppression [73, 74]. Verminderte monozytäre HLA-Expression (mHLA-DR-

Expression), die mit Hilfe der Durchflusszytometrie nachgewiesen werden kann, korreliert mit erhöhtem Infektionsrisiko. Demonstriert wurde dies durch Döcke et al. 1997, die eine positive Korrelation zwischen verminderter HLA-DR-Expression und erhöhter Mortalität bei Patienten mit Sepsis erkannten [75]. Die Erkennung stark verminderter HLA-Expression könnte daher einen Hinweis auf temporäre Immunsuppression geben und so ein rasches Eingreifen zur Vermeidung infektiöser Komplikationen ermöglichen [76].

1.3.2.2. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6), ein Glykoprotein mit einer Masse von 21 kDa, wurde erstmals 1986 identifiziert. Seine charakteristische Struktur besteht aus vier langen α -Helices, angeordnet in einer definierten Auf-Auf-Ab-Ab Topologie [77].

Es wird von Zellen des angeborenen Immunsystems wie Makrophagen, dendritischen Zellen und Mastzellen sowie von B-Lymphozyten und CD4+T-Helferzellen sezerniert. Ein geringer Anteil von IL-6 stammt auch aus der Sekretion von Nicht-Immunzellen wie Endothelzellen, Astrozyten, Epithelzellen und aus einigen malignen Zellenarten. Die Produktion von IL-6 wird durch ein großes Spektrum an Stimuli initiiert. Gemeinsames Merkmal aller Stimuli ist die Repräsentation von Gewebsschaden und Stress. IL-6 reguliert die Entzündungsreaktion im Körper als Induktionsfaktor der Akute-Phase-Protein-Synthese, indem es direkt mit dem auf Hepatozyten repräsentierten IL-6-Rezeptor interagiert [78].

Unter physiologischen Bedingungen liegt die Plasmakonzentration an IL-6 bei unter 1 pg/ml [79]. Erhöhte Werte treten bei schweren Entzündungsgeschehen auf. Insbesondere bei Sepsis können Spitzenkonzentrationen erreicht werden, wobei die Werte dann auf das bis zu 1000-fache erhöht sein können [80]. Die Halbwertszeit von IL-6 liegt bei wenigen Sekunden, so dass nach Wegfall des proinflammatorischen Stimulus schnell wieder Normwerte erreicht werden.

1.3.2.3. Endotoxin

Endotoxin ist ein LPS, das auf der äußeren Membran gramnegativer Bakterien (z.B. Enterobacteriaceae, Neisserien, Chlamydien) lokalisiert ist und als biologisch aktiver, struktureller Membranbestandteil an vielen physiologischen Funktionen teilnimmt. Erstmals entdeckt wurde die hitzestabile, bakterielle Membrankomponente von Pfeiffer et al. Ende des 19. Jahrhunderts. Da der gefundene bakterielle Membranbaustein im Rahmen seiner Experimente zu Schock und Tod der Versuchstiere führte, nannte er seine Neuentdeckung „Endotoxin“ [81].

LPS besteht aus 3 Hauptbestandteilen: Dem O-Polysaccharid, dem Core-Oligosaccharid und der Lipid-A-Komponente. Das O-Polysaccharid ist aus bis zu 60 sogenannten

„*oligosaccharide repeating units*“ aufgebaut, die als Komplex gemeinsam das O-Kettenpolymer aus 1 – 7 Zuckermolekülen bilden. Die O-Kette ist verantwortlich für die Serotypcharakterisierung einzelner Bakterien, da sie sich je nach vorliegendem Bakterienstamm in Länge und Zusammensetzung unterscheidet. Zu den funktionellen Hauptaufgaben der O-Kette zählen die Modulation der Komplementaktivierung sowie seine Funktion als Rezeptor für Bakteriophagen.

Auf die O-Kette folgt das entwicklungsgeschichtlich höher konservierte *Core-Oligosaccharid*, das aus einem inneren und einem äußeren Anteil besteht. Das *Core-Oligosaccharid* wirkt über seinen äußeren Anteil als Phagenrezeptor und hat über seinen inneren Anteil sowohl funktionellen Bestandteil an der Komplementaktivierung als auch an der Modulation der Lipid-A-Aktivität. Chemisch strukturell besteht es aus mehreren 2-Keto-3-Desoxyoctansäuremolekülen, die mit L-Glycero-D-Mannoheptosemolekülen verbunden sind.

Letzter, kovalent an das *Core-Oligosaccharid* gebundener Bestandteil des Endotoxins ist die Lipid-A Komponente, die als hydrophober Anteil des amphiphilen LPS-Moleküls fungiert. Aus 4 – 6 Hydroxyfettsäuren aufgebaut ist es über Ester- oder Amidbindungen mit einem 2-fach phosphoryliertem Glukosaminrest verbunden. Die Lipid-A Komponente ist ursächlich für die toxische Wirkung des LPS und dient der Komplementsystemaktivierung über den klassischen, antikörperunabhängigen Weg. Schließlich unterscheidet sich auch der lipophile Anteil des Endotoxins je nach Bakterienstamm in Länge und Konformation der Fettsäuren.

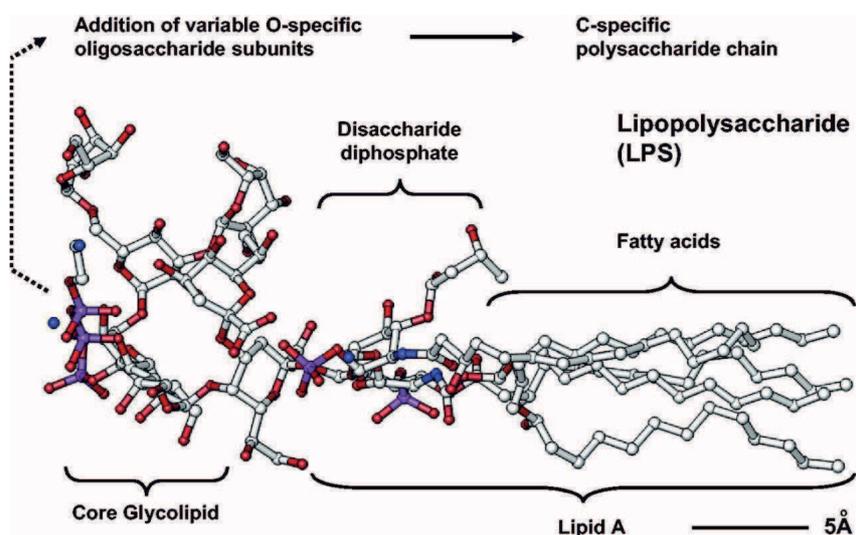


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Struktur von LPS [82]

Endotoxin besitzt eine außerordentlich hohe Humantoxizität. Es entfaltet bereits bei minimalsten Konzentrationen seine biologisch stark humanpathogene Wirkung. Intravenöse Dosen von lediglich 1 ng / (kg x h) verursachen beim Menschen ausgeprägte inflammatorische Reaktionen [83]. Dass Endotoxine eine wesentliche Rolle in der

Entwicklung einer gramnegativen Sepsis spielen, konnte in einigen Studien gezeigt werden [84-86].

2. FRAGESTELLUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war,

1. die perioperative Dynamik sowohl der klinisch etablierten Entzündungsmarker als auch der innovativen experimentellen Entzündungsmarker nach kolorektalen Eingriffen in Abhängigkeit des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen darzustellen,
2. die klinisch etablierten Entzündungsmarker auf ihre diagnostische und prognostische Wertigkeit hinsichtlich der Detektion intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen nach kolorektalen Eingriffen zu evaluieren,
3. die diagnostische und prognostische Wertigkeit der innovativen experimentellen Entzündungsmarker im Hinblick auf die Detektion intraabdominalen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz zu evaluieren und
4. die Wertigkeit der klinisch etablierten Entzündungsmarker mit der der innovativen experimentellen Entzündungsmarkern zu vergleichen.

PATIENTEN, MATERIAL & METHODEN

2.1. Patienten & Studienablauf

2.1.1. Einschlusskriterien

- Frauen und Männer im Alter > 18 Jahren mit operationspflichtiger, elektiver kolorektaler Erkrankung
- freiwillige Einwilligung zur Teilnahme an der Studie
- Operative Intervention mit Durchführung einer intestinalen Anastomose im Bereich des Kolorektums

2.1.2. Ausschlusskriterien

- Alter < 18 Jahre
- Schwangerschaft
- Teilnahme an einer anderen klinischen Studie
- Fehlende oder mangelnde Deutschkenntnisse
- Nicht geschäftsfähige Patienten (Entmündigung/Bewusstseinsstrübung), Einschränkung der Fähigkeit zur Äußerung des eigenen Willens z.B. durch Behinderung
- Unterbringung in einer Anstalt aufgrund behördlicher oder gerichtlicher Anordnung
- Fehlende oder nachträglich zurückgezogene Einwilligung

2.1.3. Diagnosekriterien

In der durchgeführten Studie war das Vorliegen einer Anastomoseninsuffizienz in Anlehnung an die Diagnosekriterien der IMACORS-Studie definiert [52]. Eine apparente Anastomoseninsuffizienz lag per definitionem vor bei Vorhandensein von stuhligem Sekret in der eingebrachten Drainage und/oder im Bereich der abdominalen Wunde, CT-morphologischem Nachweis von freier Luft und/oder fäkaler Flüssigkeit intraabdominal und/oder im Bereich der angelegten Anastomose sowie bei endoskopischer Darstellung oder Bestätigung im Rahmen einer Re-Intervention.

Die Definition der intraabdominalen septischen Komplikation umfasste das Vorliegen eines intraabdominalen Abszesses und eine fäkale/putride Peritonitis im Rahmen einer Anastomoseninsuffizienz oder ohne diese.

2.1.4. Patienteneinschluss

Nach Screening der Patienten sowie informierter Einwilligung (schriftliche und mündlich) wurde der Patient in die Studie eingeschlossen. Dies erfolgte pseudonymisiert. Lediglich eine

fortlaufende Studiennummer ermöglichte eine Zuordnung der Probanden zum entsprechenden Probenmaterial. Im Falle eines nachfolgenden Zurückziehens der Einverständniserklärung im Studienverlauf wurden sämtliche Daten und jegliches Probenmaterial unverzüglich irreversibel gelöscht bzw. entsorgt.

2.1.5. Studiendesign und Votum der Ethikkommission

Beim Design der Studie handelt es sich um eine monozentrische, prospektive, klinische ex-vivo Beobachtungsstudie (Non-AMG, Non-MPG). Die Grundsätze der Deklaration von Helsinki in ihrer derzeit gültigen Fassung wurden befolgt. Durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München erfolgte die Erklärung der Unbedenklichkeit und die Vergabe der Studien-ID 239-13.

Die Durchführung der Studie erfolgte unter strenger Beachtung der Good Clinical Practice-Konformität (GCP) und Einhaltung der Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP).

2.1.6. Studienablauf

Den Patienten wurde präoperativ (Tag 0) und im weiteren Verlauf postoperativ täglich (Tag 1 bis 7) mindestens eine Woche lang (7 Tage), bei Komplikationen gegebenenfalls länger, venöses Blut abgenommen. Das Gesamtblutvolumen pro Abnahmetag umfasste max. 33 ml Vollblut. Darin waren 10 ml Serum, 20 ml Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Plasma und 3 ml Citrat-Plasma enthalten.

Um eine mögliche Belastung der Studienpatienten durch die zusätzlichen Blutentnahmen ausschließen zu können, wurde vorsorglich eine Hämoglobin-Untergrenze von 7 g/dl festgesetzt, bei deren Unterschreitung keine Blutentnahme im Rahmen der Studie erfolgte. Diese Hämoglobin-Untergrenze wurde nach Durchsicht entsprechender wissenschaftlicher Literatur erhoben: In einer von Hébert und Szick durchgeführten Studie wurde die o.g. Hämoglobin-Untergrenze für kreislaufstabile, anämische Patienten empfohlen [87].

Alle Blutentnahmen wurden standardisiert nüchtern (Übernachtfasten) zwischen 6:30 und 9:00 Uhr des jeweiligen Beobachtungstages durchgeführt, um eine Kontrolle der zirkadianen Variabilität und einen konstanten zeitlichen Abstand der Blutentnahmen sicherzustellen.

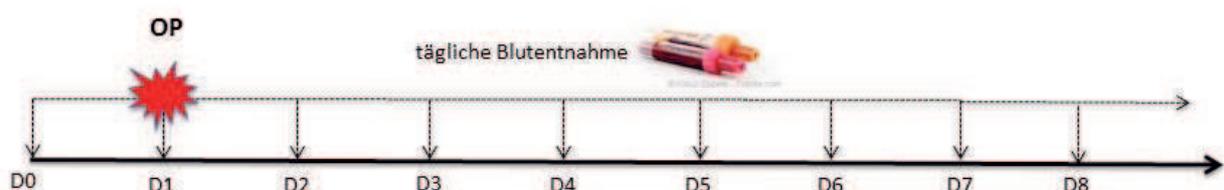


Abbildung 2: Schemazeichnung Studienablauf D: Tag, OP: Operation

2.2. Materialien & Geräte

2.2.1. Geräte

In Tabelle 4 sind alle für die Untersuchungen verwendeten Geräte aufgeführt.

Produkt	Hersteller
Smartline EAA Luminometer	Berthold Detection Systems GmbH, Pforzheim, Deutschland
Durchflusszytometer, COULTER® EPICS XL™ with ADC	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
Vibrofix VN1®	Labnet International Inc., Edison, NJ, USA
Vortex Mixer VX-100	Labnet International Inc., Edison, NJ, USA
Tischzentrifuge	Hettlich Rotanta/S, Hettlich AG, Bäch, Schweiz
Tischzentrifuge	Hettlich Rotanta 460R, Hettlich AG, Bäch, Schweiz
Incubating Mini Shaker	VWR International LLC, West Chester, PA, USA
Thermostat, MGW Lauda MS	Fa. MGW Lauda, Lauda-Königshofen, Deutschland
Pipette, Eppendorf Research 1000 µl	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Pipette Eppendorf Research 100µl	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Pipette Eppendorf Research 10µl	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland

Tabelle 4: Geräte

2.2.2. Verbrauchsmaterialien

In Tabelle 5 sind alle für die Versuche verwendeten Materialien aufgeführt.

Produkt	Hersteller
Safety-Multifly®-Set 0,8×19mm,21G×3/4” TW	SARSTEDT AG&Co. Nürnberg, Deutschland
S-Monovette® 9ml K3E	SARSTEDT AG&Co. Nürnberg, Deutschland
S-Monovette® 3ml 9NC	SARSTEDT AG&Co. Nürnberg, Deutschland

S-Monovette® 9ml Z	SARSTEDT AG&Co. Nürnberg, Deutschland
CryoTubes™ Vials 1ml	Nunc A/S, Roskilde, Dänemark
BD Falcon™, Conical Tube 50 ml Polypropylene, 30×115 mm style	BD Biosciences, Durham, NC, USA
BD Falcon™ 5ml Round Bottom Tubes	BD Biosciences, San Jose, CA, USA
Endotoxin Activity Assay® Kit	Spectral Diagnostics Inc., Toronto, Kanada
Pipettenspitzen, epT.I.P.S. 2-200µl	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen, epT.I.P.S. 50-1000µl	Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen, TipONE 100-1000µl, Filter Tips	Starlab GmbH, Ahrensburg, Deutschland

Tabelle 5: Verbrauchsmaterialien

2.2.3. Chemikalien

In Tabelle 6 sind alle für die Versuche verwendeten Chemikalien aufgeführt.

Produkt	Hersteller
Endotoxin Activity Assay Reagent	Spectral Diagnostics Inc., Toronto, Kanada
OptiLyse C Lysing Solution	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
Phosphate-buffered-saline (PBS)	PAN™ Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland

Tabelle 6: Chemikalien

2.2.4. Antikörperkonjugate

In Tabelle 7 sind alle in den Versuchen verwendeten Antikörperkonjugate aufgeführt.

Produkt	Hersteller
IgG1(Mouse)-PE (Clone: 679.1Mc7),, 10 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA

IgG2a(Mouse)-ECD (Clone: 7T4-1F5), 10 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
IgG2a(Mouse)-FITC (Clone: 7T4-1F5), 10 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
HLA-DR-PC5 (Clone: Immu357), 10 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
CD14-ECD (Clone: RMO52), 10 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
CD45-PC5 (Clone: Immu19.2), 10 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
CD14-FITC (Clone: R MO52), 20 µl/test	Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA

Tabelle 7: Antikörperkonjugate

2.3. Methoden

2.3.1. Durchführung der Blutentnahme und Verarbeitung der Blutproben

Die tägliche Entnahmemenge waren 10 ml Serum, 3 ml Citrat-Plasma sowie 20 ml EDTA-Plasma. Die Blutentnahme erfolgte mit Hilfe eines bereits vorliegenden Zuganges zum Gefäßsystem (zentralervenöser Katheter, peripherervenöser Zugang) oder durch Punktion einer peripheren Vene. Im Anschluss wurden die Proben sofort bzw. maximal innerhalb der darauf folgenden 180 Minuten zur Endotoxinbestimmung sowie zur FACS-Analyse ins Labor gebracht. Blutplasma und -serum wurden gewonnen und anschließend bei -80°C kryokonserviert.

2.3.2. Gewinnung des Blutplasmas und Blutserums

Nach Entnahme des Patientenblutes und umgehendem Transport des Blutes ins Labor erfolgte die weitere Verarbeitung des Probenmaterials. Zur Plasma- und Serumgewinnung wurde das Blut bei Raumtemperatur 20 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert und anschließend bei -80°C kryokonserviert.

2.3.3. Funktionsprinzip der Endotoxin-Messung

Der *Endotoxin Activity Assay*[™] (EAA[™]) ist ein Chemilumineszenz-Bioassay zur Messung der Endotoxin-Aktivität im Vollblut. Es handelt sich um einen Schnelltest, dessen Funktion auf einer Reaktion von Lipopolysacchariden mit Anti-Endotoxin-Antikörpern beruht. Die Antikörper sind Immunglobuline der Klasse IgM. Eine wesentliche Rolle in der Funktionsweise des EAA[™] spielt der sogenannte „*Respiratory Burst*“ der neutrophilen

Granulozyten im Patientenblut. Als „*Respiratory Burst*“ bezeichnet man einen Prozess, bei dem es zur Freisetzung von toxischen Sauerstoffradikalen und Stickstoffoxiden durch lysosomale Enzyme kommt. Die Antigen-Antikörper-Komplexe werden durch Komplementproteine opsoniert und lösen dadurch eine Voraktivierung (*Priming*) der Granulozyten aus. Dieses „*Priming*“ der Neutrophilen triggert in Zusammenspiel mit dem in der Reagenzlösung enthaltenen Zymosan den „*Respiratory Burst*“. Die freigesetzten Oxidantien der Zellen reagieren mit Luminol und lösen dadurch eine Chemilumineszenz aus. Das Aussenden elektromagnetischer Wellen in Form von Licht (= Chemilumineszenz) kann durch das Luminometer detektiert und als „*Relative light Units*“ (RLU) gemessen werden. Während des Messvorgangs erfolgt eine automatisierte Umrechnung der relativen Lichteinheiten in die Endotoxin-Aktivität. Der Wert der Endotoxin-Aktivität entspricht dem Verhältnis der maximal möglichen Aktivität des Endotoxins zur Netto-Endotoxin-Aktivität (0 – 100%). Um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten, sind Granulozyten-Konzentrationen zwischen $0,5$ und 20×10^9 Zellen/l Blut notwendig [88, 89].

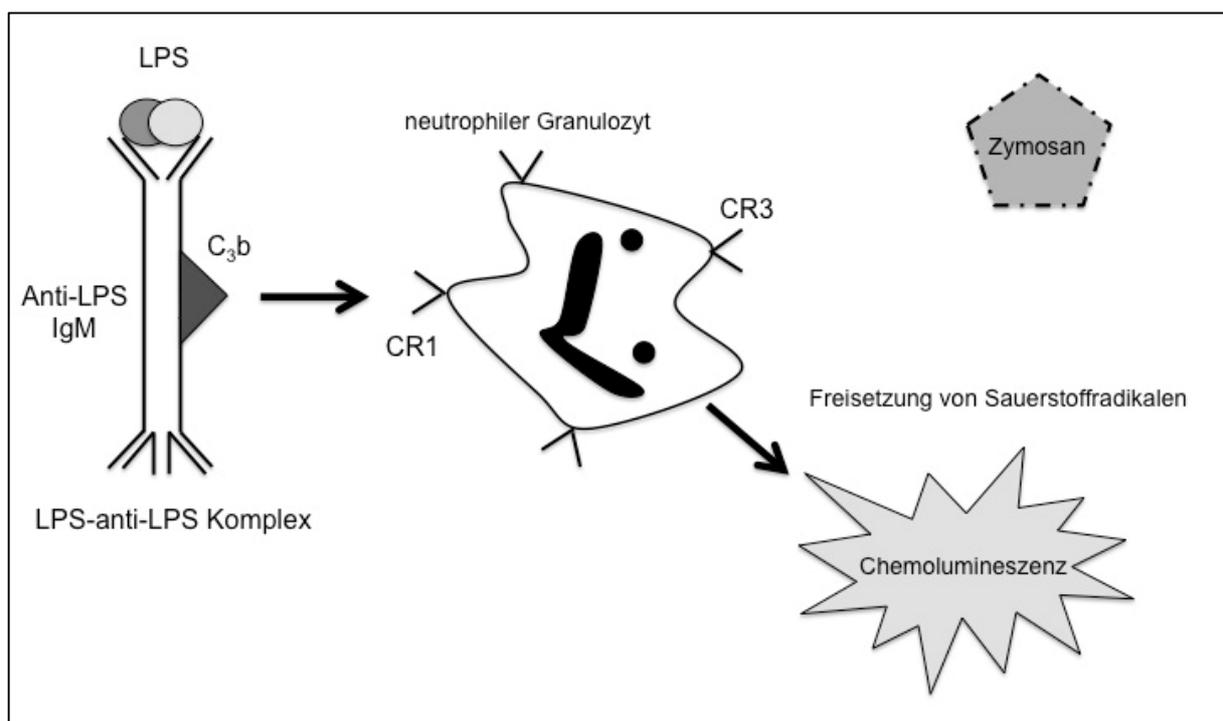


Abbildung 3: Reaktionsweise des *Endotoxin-Activity-Assay*TM (modifiziert nach [90]) LPS: Lipopolysaccharid, C3b: Komplement-Faktor 3b, IgM: Immunglobulin M, CR1: Komplement-Rezeptor 1, CR3: Komplement-Rezeptor 3

2.3.4. Durchführung des *Endotoxin Activity Assay*TM

Die Endotoxinmessung erfolgte mit EDTA-antikoaguliertem Vollblut. Das EAA-Test-Kit von Spectral Diagnostics Inc. beinhaltet EAATM-Reagenz (Pufferlösung, *Phosphate buffered saline*, PBS), ein leeres endotoxinfreies Röhrchen (*Aliquote Tube*), ein Röhrchen mit Endotoxinüberschuss (*LPS-Max Tube* mit 2,3 ng Endotoxin; *E. coli* 055:B5) und drei weitere

Röhrchen (1,2 und 3) in jeweils doppelter Ausführung, welche die Reagenzien für die Chemolumineszenzreaktion enthalten. Röhrchen 2 und 3 enthalten Luminol, Zymosan und LPS-Antikörper. Röhrchen 1 enthält nur Luminol und Zymosan. Die doppelte Ausführung der Proberöhrchen dient zum Ausschluss von Messfehlern bedingt durch variable Anzahl und Funktion der im Patientenblut enthaltenen Neutrophilen.

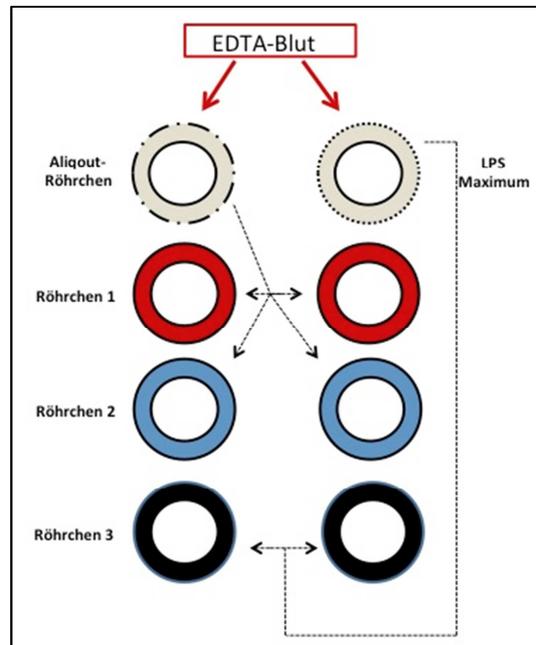


Abbildung 4: Pipettierschema *Endotoxin Activity Assay*TM

1. Jeweils 500 µl Patientenblut wurden in das Aliquot-Röhrchen (enthält kein LPS; dient der Negativkontrolle) sowie in das LPS Max-Röhrchen (enthält definierte Menge an LPS; dient der Positivkontrolle) pipettiert, gevortext und 10 Minuten bei einer Geschwindigkeit von 300 U/min bei 37 °C in einem Schüttler inkubiert.
2. Je 1000 µl EAATM-Reagenz wurden in die Proberöhrchen 1 - 3 pipettiert.
3. Nun erfolgte das Befüllen der Röhrchen 1 – 3 mit 40 µl des zu untersuchenden Patientenblutes.
 - a. Röhrchen 1 erhielt Blut ohne LPS-Zusatz (aus dem Aliquot-Röhrchen). Es enthielt kein Anti-LPS-Antikörper und diente somit der Negativkontrolle.
 - b. Röhrchen 2 diente der eigentlichen Messung der Endotoxin-Konzentration des Patienten. Es erhielt ebenfalls LPS-freies Blut aus dem Aliquot-Röhrchen, beinhaltete jedoch zusätzlich Anti-LPS-Antikörper.
 - c. Röhrchen 3 enthielt Anti-LPS-Antikörper und erhielt Blut mit hoher LPS-Konzentration (aus dem LPS Maximum-Röhrchen). Damit diente es als hochpositive Kontrolle.

4. Es erfolgte das Vortexen und die erneute Inkubation bei einer Temperatur von 37 °C und 300 U/min für 15 Minuten im Schüttler.
5. Nun erfolgte die Messung der Chemolumineszenz der Röhrrchen 1 – 3 (sowie deren Duplikate) im Luminometer. Durch Messung der Basalaktivität von Endotoxin in Röhrrchen 1 sowie der maximalen Aktivität in Röhrrchen 3 erstellte das Gerät eine Eichkurve. Mit Hilfe dieser können dann durch Messung der Lichtemission in Röhrrchen 2 die Endotoxinkonzentration der Patientenprobe errechnet werden. Das Ergebnis der Endotoxinbestimmung ergibt sich aus dem Mittelwert (Ave) der beiden Messungen. Es handelt sich um einen semiquantitativen, dimensionslosen Wert der in „*relative light units*“ (RLU) angegeben wird.

Die Werte werden folgendermaßen interpretiert:

Low level: Ergebnisse $\leq 0,39$ RLU (*low*) schließen eine Infektion mit gramnegativen Bakterien mit großer Wahrscheinlichkeit aus. Niedrige Endotoxin-Aktivität geht mit geringem Risiko einer Sepsisentwicklung einher [91].

Middle level: Werte zwischen 0,40 - 0,59 RLU (*middle*) sprechen für mittlere Endotoxin-Aktivität. Das Risiko eine Sepsis zu entwickeln ist erhöht [91].

High level: Hohe Endotoxin-Aktivität liegt bei Werten $\geq 0,60$ RLU (*high*) vor. Durch die vorliegende Endotoxämie unterliegt der Patient einem hohen Risiko eine schwere Sepsis zu entwickeln [91].

2.3.5. Oberflächenphänotypisierung humaner Blutzellen im FACS

Der „*Fluorescence Activated Cell Sorter*“ (FACS) ist ein Gerät, das eine multiparametrische Analyse von Zellen erlaubt. Seine Funktionsweise beruht auf dem Prinzip der Immunfluoreszenz. Bestimmte Zellen bzw. intra- oder extrazytoplasmatische Antigene werden unter Anwendung von fluoreszierenden Antikörpern markiert und dadurch sichtbar gemacht. Somit ergibt sich die Möglichkeit, die kovalent an die fluoreszierende Substanz gekoppelten Antikörper und deren gebundenen Antigene zu detektieren und zu quantifizieren. Die Durchflusszytometrie erlaubt es innerhalb kürzester Zeit, Zellen anhand von Granularität, Größe und Intensität von Fluoreszenzfarben zu analysieren.

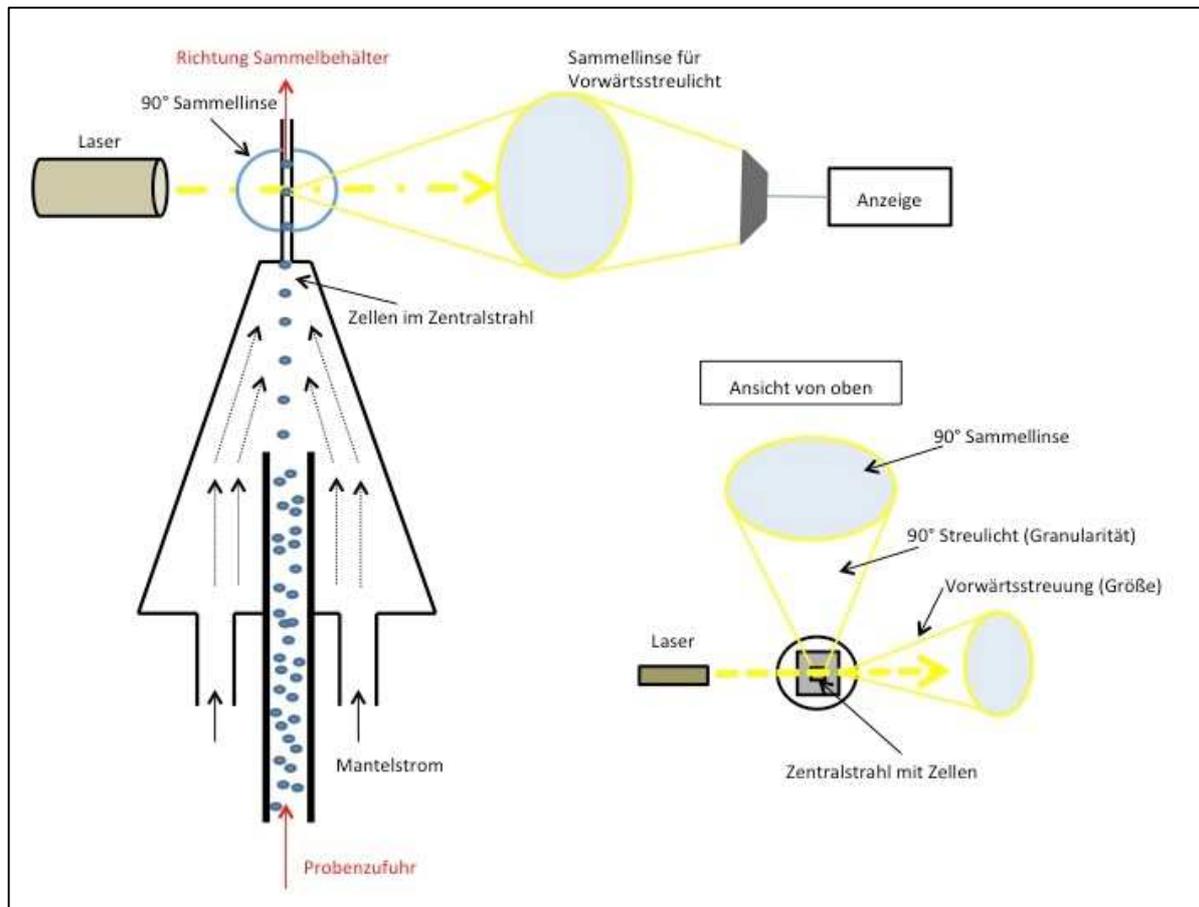


Abbildung 5: Funktionsweise der FACS-Analyse (modifiziert nach [55])

Die Zellsuspension wird zunächst vom Gerät angesaugt und mit hoher Geschwindigkeit mit bis zu 10 000 Zellen pro Sekunde als Flüssigkeitsstrahl an einem Laser vorbeigeführt. Damit der Laser die Parameter jeder einzelnen Zelle messen kann, ist die Flussgeschwindigkeit des außen liegenden, kegelförmig ausgerichteten Mantelstroms wesentlich höher. Dies hat die Folge einer hydrodynamischen Sortierung der Zellen, die infolgedessen einzeln, perlschnurartig aufgereiht in einen zentralen Strahl fokussiert werden und die Messkammer durchfließen. Beim Durchfließen der Messkammer werden die vereinzelt Zellen seitlich von einem Laserstrahl getroffen.

Ein Parameter, der im Rahmen der durchflusszytometrischen Messung mit Hilfe des Lasers gemessen wird, ist das Streulicht. Trifft der Laserstrahl die Zelle, kommt es zu einer Streuung des Lichts. Beeinflusst wird die Lichtstreuung durch die Anzahl der Strukturen im Zellinneren, der Querschnittsfläche der Zelle und der Membranstruktur. Gemessen wird dann das sogenannte „Vorwärtsstreulicht“ sowie das „90°-Streulicht“. Mit Hilfe des „Vorwärtsstreulichts“ kann durch die messbare Lichtablenkung eine Aussage über die Größe einer Zelle getroffen werden. Das „90°-Streulicht“ gibt Auskunft über die Granularität einer Zelle. Je ausgeprägter der Zellinhalt, desto größer ist das Seitwärts- bzw. 90°-Streulicht.

Durch die Messung des Streulichts kann das FACS-Gerät also Zellen aus Vollblut anhand ihrer ähnlichen Streuungseigenschaften nach Größe und Granularität sortieren und damit die Verteilung von Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten darstellen.

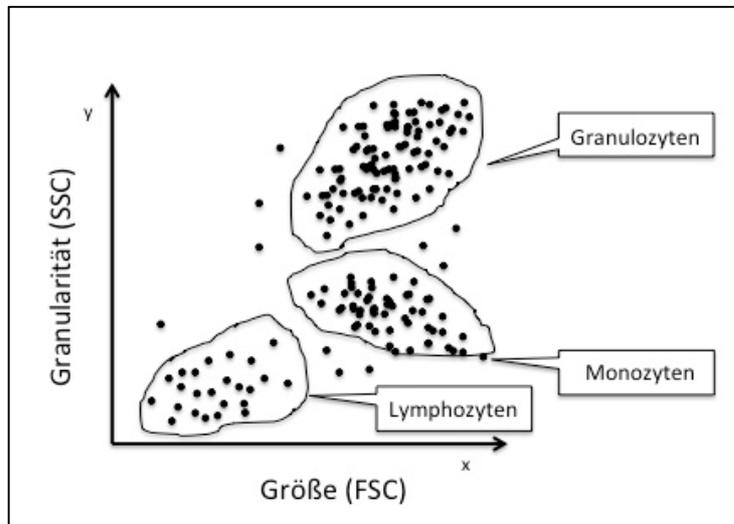


Abbildung 6: Streulicht Dot-Plot (modifiziert nach [55]) Die Darstellung erfolgt mit Hilfe einer sogenannten *Dot-Plot* Graphik. Hierbei wird die Größe der Zellen auf der x-Achse und die Granularität der Zellen auf der y-Achse aufgetragen. SSC: *Side Scatter*, FSC: *Forward Scatter*

Das FACS-Gerät ist außerdem in der Lage, das Fluoreszenzsignal einer Zelle zu messen. Durch einen an ein Fluoreszenzmolekül konjugierten Antikörper kann das Vorliegen bestimmter Oberflächenmerkmale (z.B. CD14) nachgewiesen werden. Da die Expression von bestimmten Oberflächenmolekülen (wie CD) Auskunft über die funktionellen Eigenschaften oder den vorliegenden Zelltyp gibt, kann dadurch im weiteren potentiell eine Aussage über den Immunstatus einer Person getroffen werden. Die fluoreszierenden Stoffe absorbieren Licht definierter Wellenlänge und emittieren im Gegenzug Licht bestimmter Wellenlänge. Da ein Teil der absorbierten Lichtenergie in Form von Wärme verloren geht, besitzt das emittierte Licht eine längere Wellenlänge. Jeder fluoreszierende Antikörper ist spezifisch für ein bestimmtes Oberflächenmerkmal und besitzt gleichzeitig ein definiertes Emissionsspektrum. Dies impliziert, dass das FACS-Gerät anhand der typischen Emissionsspektren definierter Antikörper Zellen nach deren Eigenschaften sortieren kann.

2.3.6. Durchführung der FACS - Analyse

1. Konjugation von 25 µl EDTA-antikoaguliertem Vollblut mit den jeweiligen Antikörpern zur Oberflächenfärbung:
 - a. Probe 1, die Isotypenkontrolle, wurde mit jeweils 2,5 µl IgG1-PC5, IgG2a-FITC und IgG2a-ECD Antikörpern versetzt.

- b. Probe 2, die der Messung der monozytären HLA-DR-Expression dient, erhielt 15 μl HLA-DR-PC5 sowie 2,5 μl CD14-ECD Antikörper.
2. Mischen der Proben mittels Vibrofix und anschließende Inubation bei 4 °C für 20 Minuten.
3. Lyse der Erythrozyten durch Zugabe von 250 μl Optilyse® Lysing Solution und Inkubation im Wasserbad bei 37 °C für 20 Minuten.
4. Nach Ablauf der 20 Minuten erneute Inkubation der Proben für 20 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur zur Equilibration.
5. Zugabe von 250 μl PBS-Lösung unmittelbar vor Durchführung der durchflusszytometrische Messung.
6. Auswertung der Daten mit Hilfe der Software WinMDI 2.9:
 - a. Anlegen eines Gates auf die Population der CD-14 positiven Monozyten (Abbildung 7A).
 - b. Analyse der CD-14 positiven Monozyten auf ihre HLA-DR-Expression (mHLA-DR-Expression) (Abbildung 7B).

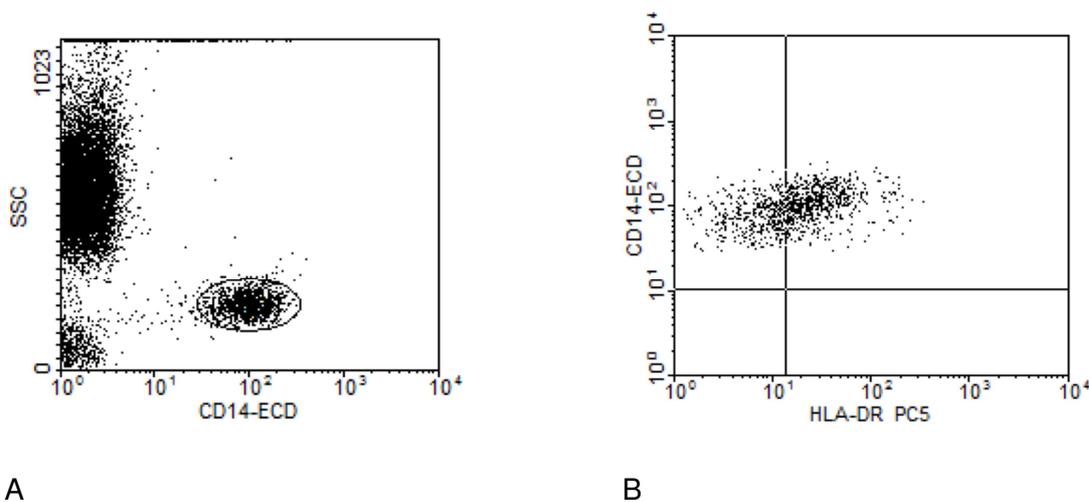


Abbildung 7: Beispiel für die Auswertung der FACS-Messung mit Hilfe der Software WinMDI 2.9

Die exakten Konzentrationen der verschiedenen Antikörper können dem Kapitel 3.2.5 Durchflusszytometrie entnommen werden.

2.3.7. Statistische Auswertung

Die deskriptiven Ergebnisse wurden in Zahlen und Prozentzahlen, oder als Median und Variationsweite (*range*) angegeben. Zum Vergleich von Häufigkeiten wurden, in

Abhängigkeit der untersuchten Variablen, der χ^2 -Test oder der exakte Fisher-Test (zur Untersuchung von geringen Häufigkeiten) angewandt. Stetige nicht-parametrische Variablen wurden unter Anwendung des Mann-Whitney U Tests verglichen.

Die statistische Datenanalyse sowie die graphische Darstellung der Daten erfolgte mit SPSS (IBM, Version 23.0, Chicago, Ill, USA) und R. Folgende R packages wurden verwendet:

- haven
- ggplot2
- ggparallel
- RColorBrewer
- plyr
- dplyr
- MASS
- proC

2.3.7.1. ROC-Analyse und Youden Index

Mit Hilfe der *Receiver Operating Characteristic* (ROC) Analyse wurde die Diskriminationsfähigkeit bzw. Vorhersagekraft der untersuchten Biomarker bewertet. Dies ist die Fähigkeit eines untersuchten Biomarkers zu differenzieren, ob eine Komplikation im postoperativen Verlauf auftritt oder nicht. Da es sich im Falle eines Biomarkers um ein stetiges Merkmal handelt, kann häufig nicht einfach in „positiv“ bzw. „negativ“ klassifiziert werden. Trotzdem ist zur Etablierung eines Biomarkers eine binäre Aussage (z.B. die Inzidenz einer Komplikation, ja oder nein) notwendig. Um eine binäre Aussage treffen zu können, wird ein Schwellenwert festgelegt. Der Schwellenwert selbst ist in der Graphik nicht dargestellt, kann aber jedem Punkt des Graphen zugeordnet werden. Erhobene Werte größer als der Schwellenwert klassifizieren das Testergebnis als „positiv“ (z.B. Komplikation: ja), Werte kleiner als der Schwellenwert ordnen das Testergebnis als „negativ“ (z.B. Komplikation: nein) ein. Trägt man nun für jeden annehmbaren Wert die Sensitivität (den Anteil richtig positiv klassifizierter Testergebnisse) gegen $1 - \text{Spezifität}$ (den Anteil falsch positiv klassifizierter Testergebnisse) in ein Koordinatensystem ein und verbindet jeden Punkt miteinander, so entsteht ein Graph. Dieser Graph stellt die ROC-Kurve dar [92]. Die quantitative Bewertung des Testes, d.h. die diagnostische Güte des Biomarkers, wird letztendlich mittels Fläche unter dieser Kurve, der *area under the curve* (AUC) ermittelt. Die AUC entspricht der Wahrscheinlichkeit, bei Patienten mit Komplikation höhere Messwerte als bei Patienten ohne Komplikation zu finden. Bei idealer Separation durch den untersuchten Biomarker hat die AUC den Wert eins und die ROC-Kurve verläuft in der linken oberen Ecke des Koordinatensystems. Im Falle dieser Ideal-Konstellation läge eine Sensitivität von eins

(100%) und eine Spezifität von eins (100%) vor, d.h. $1 - \text{Spezifität}$ nimmt den Wert null an. Nimmt die AUC den Wert 0,5 an, bedeutet dies eine rein zufällige Differenzierung zwischen Patienten mit oder ohne Komplikation durch den Biomarker. Der Biomarker hätte in diesem Fall keinerlei Vorhersagekraft und die Kurve würde der Winkelhalbierenden entsprechen [93-95]. Eine AUC von 0,7 – 0,8 gilt als akzeptable Diskrimination, eine AUC von 0,8 – 0,9 spiegelt eine exzellente Diskrimination wieder. Werte der AUC $> 0,9$ bedeuten eine außergewöhnlich gute Diskrimination [96].

Der Youden-Index ($= \text{Sensitivität} + \text{Spezifität} - 1$) wird zur Bestimmung der diagnostischen Gesamt-Effektivität eingesetzt sowie zur Bestimmung des *Cut-off* Wertes [97]. Der Index entspricht dem maximalen Abstand zwischen ROC-Kurve und Winkelhalbierender. Er kann Werte zwischen null und eins annehmen. Eine ideale Differenzierung durch den Biomarker würde vorliegen, wenn der Index eins wäre. Tendenziell geht eine ROC-Kurve mit hoher AUC auch mit einem hohen Youden-Index und *vice versa* einher [94].

2.3.7.2. Verlaufskurven

Dargestellt ist der Mittelwert mit Standardabweichung des jeweilig untersuchten Markers am Tag vor der Operation (Tag 0) sowie an den folgenden 9 Tagen nach Operation (Tag 1 bis Tag 9) in Form eines Graphen. Die eingezeichnete rot-weiß gestrichelte Linie stellt den jeweiligen Normwert bzw. Referenzbereich des erhobenen Markers dar. Lediglich im Falle der mHLA-DR-Expression wurde kein Normwert eingezeichnet. Da es sich um die erste Studie handelt die die HLA-DR-Expression auf Monozyten mit dieser Fragestellung untersucht, liegt zum heutigen Zeitpunkt kein definierter Normwert vor. In gesunden Erwachsenen liegt der prozentuale Anteil der mHLA-DR-Expression bei 70 – 100 % [98]. Für die Serum-Marker CRP und Leukozytenzahl sind zusätzlich die ersten 5 Tage vor Diagnosestellung (Tag - 5 bis Tag 0) und die folgenden 5 Tage nach Diagnosestellung (Tag 0 bis Tag 5) als Mittelwert mit Standardabweichung graphisch dargestellt. Statistische Signifikanzen wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht berechnet. Es handelt sich um eine rein deskriptive Auswertung.

2.3.7.3. Boxplotdarstellung

Bei der Boxplotdarstellung handelt es sich um eine graphische Darstellung, mit Hilfe derer die unterschiedliche Häufigkeitsverteilung einer Reihe numerischer Daten in zwei Stichproben dargestellt und verglichen werden kann. Die rechteckige Box repräsentiert die jeweilige Stichprobe. Die Box selbst wird oben vom 3. und unten vom 1. Quartil begrenzt. Die sog. *Whiskers* zeigen das Maximum und das Minimum der Stichprobe an. Ausreißer werden als einzelne Punkte dargestellt. Innerhalb der Box ist der Median als Strich gekennzeichnet.

In der Boxplotdarstellung sind also die Werte der sog. 5-Punkte-Zusammenfassung dargestellt: Median, oberes und unteres Quartil sowie maximaler und minimaler Wert [95].

3. ERGEBNISSE

3.1. Klinische und operative Patientencharakteristika

Insgesamt wurden 69 Patienten, welche die Einschlusskriterien erfüllten, eingeschlossen. Acht Patienten wurden aufgrund fehlender Daten oder Studienabbruch von der statistischen Analyse ausgeschlossen. Die endgültige Studienpopulation bestand damit aus 61 Patienten, anhand derer Daten die statistische Auswertung erfolgte. Die klinischen und perioperativen Charakteristika der Studienpopulation sind in Tabelle 8 dargestellt.

Das durchschnittliche Alter der Patienten lag bei 63 Jahren. Der am häufigsten durchgeführte Eingriff war mit 39% die tiefe anteriore Rektumresektion. 34% der Patienten erhielten eine Sigmaresektion, 13% eine Hemikolektomie rechts und 5% eine Proktokolektomie.

64% der Studienteilnehmer wurden aufgrund einer malignen Erkrankung operiert. 4% der Patienten waren an einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung erkrankt. Der durchschnittliche Charlson-Komorbiditätsindex (CCI) lag bei 3 Punkten, 20% erhielten präoperativ eine Strahlentherapie. 38% der Patienten wiesen einen ASA-Score größer zwei auf.

In der Studie zeigte sich eine Inzidenz postoperativer intraabdominaler septischer Komplikationen von 21%, wovon wiederum 69% an einer Anastomoseninsuffizienz litten. Die Rate an Anastomoseninsuffizienzen, bezogen auf die Gesamtpatientenzahl, lag damit bei 14%. Der durchschnittliche Tag der Diagnose zeigte sich am 6. postoperativen Tag. Kein Patient verstarb während des Krankenhausaufenthalts oder innerhalb der ersten 90 postoperativen Tage.

Parameter	Alle Patienten N (%)
N	61 (100)
Alter	63 [23-84]
Geschlecht	
Männlich	37 (61)
Weiblich	24 (39)
Art des Eingriffs	
Tiefe anteriore Rektumresektion (TAR)	24 (39)
Sigmaresektion	21 (34)
Hemikolektomie rechts	8 (13)
Proktokolektomie	3 (5)
Malignität	39 (64)
Charlson-Komorbiditätsindex (CCI)	3 [0 - 10]
ASA > 2	26 (38)
Anastomoseninsuffizienz (AI)	9 (14)
Diagnosezeitpunkt der AI nach Operation	6 [3 - 7]

Tabelle 8: Übersicht über die Patientencharakteristika.

3.2. Klinisch etablierte Entzündungsmarker

Im folgenden wird der perioperative Verlauf der untersuchten Serum-Marker bei Patienten mit postoperativer Komplikation (intraabdominale septische Komplikation, IASC und Anastomosensuffizienz, AI) solchen ohne Komplikation gegenübergestellt.

3.2.1. Leukozytenzahl

3.2.1.1. Perioperativer Verlauf der Leukozytenzahl

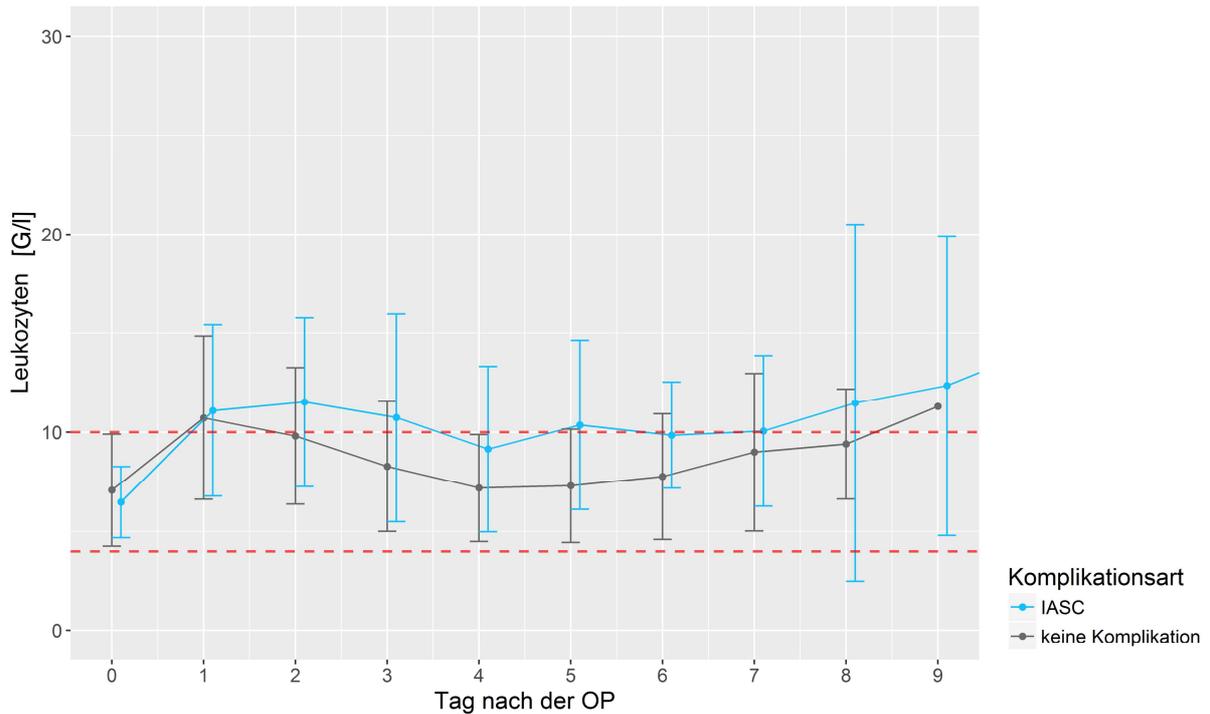


Abbildung 8 Kinetik der Leukozytenzahl (G/l) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzbereich der Leukozytenzahl (4 G/l – 10 G/l) dar.

Ergebnisse

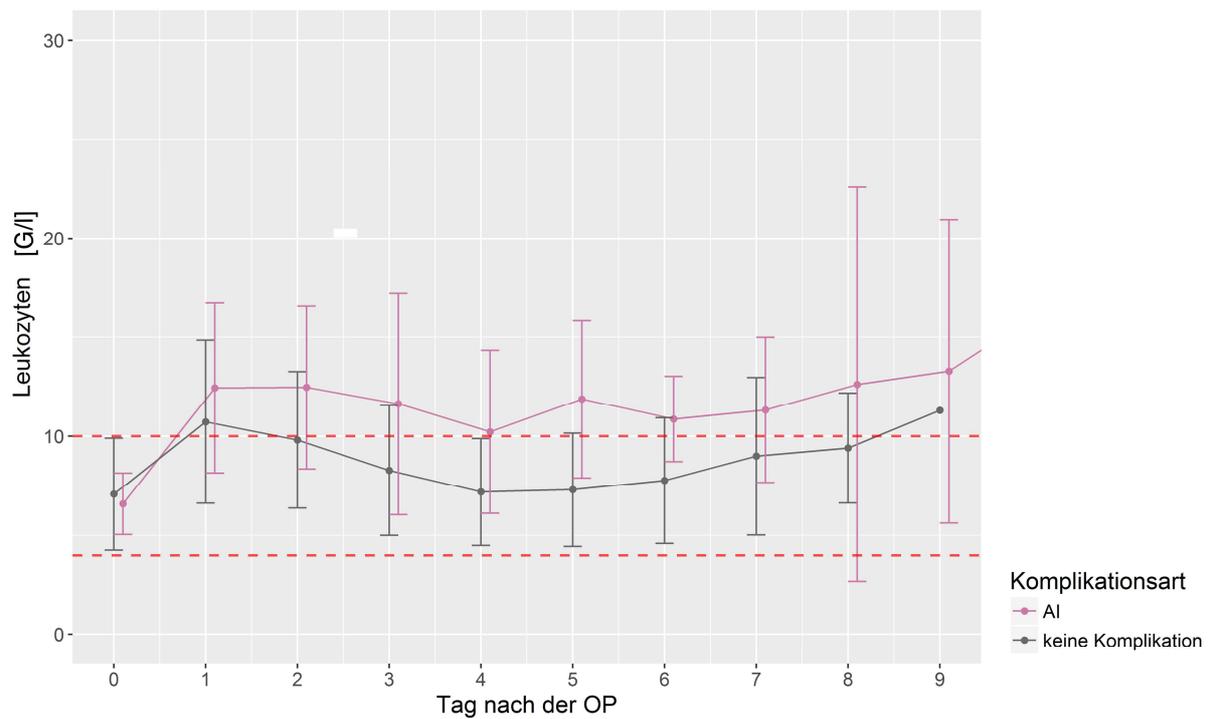


Abbildung 9 Kinetik der Leukozytenzahl (G/l) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomosensinsuffizienz (AI) im Vergleich zu Patienten ohne postoperative Komplikation.

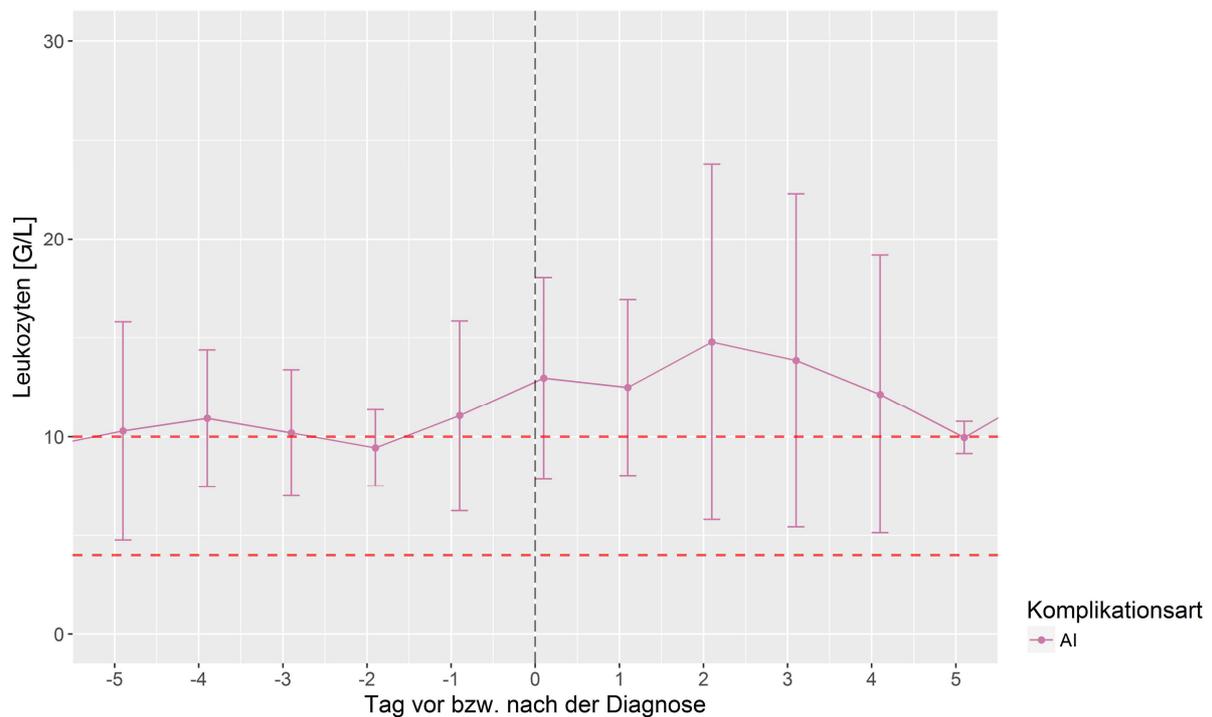


Abbildung 10: Kinetik der Leukozytenzahl (G/L) bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) 5 Tage vor Diagnosestellung (- 1 bis - 5), am Tag der Diagnosestellung (0) und an den folgenden 5 Tagen (1 bis 5) nach Diagnosestellung

Abbildung 8 und 9 stellen den perioperativen Verlauf der Leukozytenzahl (G/l) bei Patienten mit und ohne postoperative Komplikationen (IASC, AI) gegenüber. Die eingezeichnete rot-

weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzbereich (4 G/l – 10 G/l) der Leukozytenzahl im Blut dar.

Sowohl Patienten ohne als auch Patienten mit postoperativer intraabdominaler septischer Komplikation bzw. Anastomoseninsuffizienz wiesen eine durchschnittlich normwertige Leukozytenzahl am Tag vor der Operation auf. In allen 3 Patientengruppen (Patienten ohne Komplikation, Patienten mit IASC, Patienten mit AI) wurden an Tag 0 durchschnittliche Leukozytenzahlen von weniger als 10 G/l beobachtet. Bei Patienten ohne Komplikation fand man am 1. Tag nach durchgeführter Operation einen kurzfristigen Anstieg der Leukozytenzahl. In dieser Gruppe wurden im Vergleich zu Patienten mit Anastomoseninsuffizienzen (Abbildung 9) an Tag 2 wieder Normwerte erreicht.

Auch in Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation bzw. Anastomoseninsuffizienz war ein postoperativer rapider Anstieg der Leukozytenzahl zu messen. In beiden Komplikationsgruppen zeigte sich ein Maximum der Leukozytenzahl an Tag 2.

Abbildung 10 stellt den Verlauf der Leukozytenzahl 5 Tage vor der Diagnose „Anastomoseninsuffizienz“ (Tag -5 bis Tag 1), den Tag der Diagnosestellung (Tag 0) sowie die folgenden 5 Tage danach (Tag 1 bis Tag 5) dar. Es ist zu beobachten, dass bereits am Tag vor dem Auftreten der Nahtinsuffizienz erhöhte Leukozytenkonzentrationen von mehr als 10 G/L auftraten. Ein Spitzenwert wurde am 2. Tag nach Diagnosestellung erreicht.

3.2.1.2. ROC-Analyse

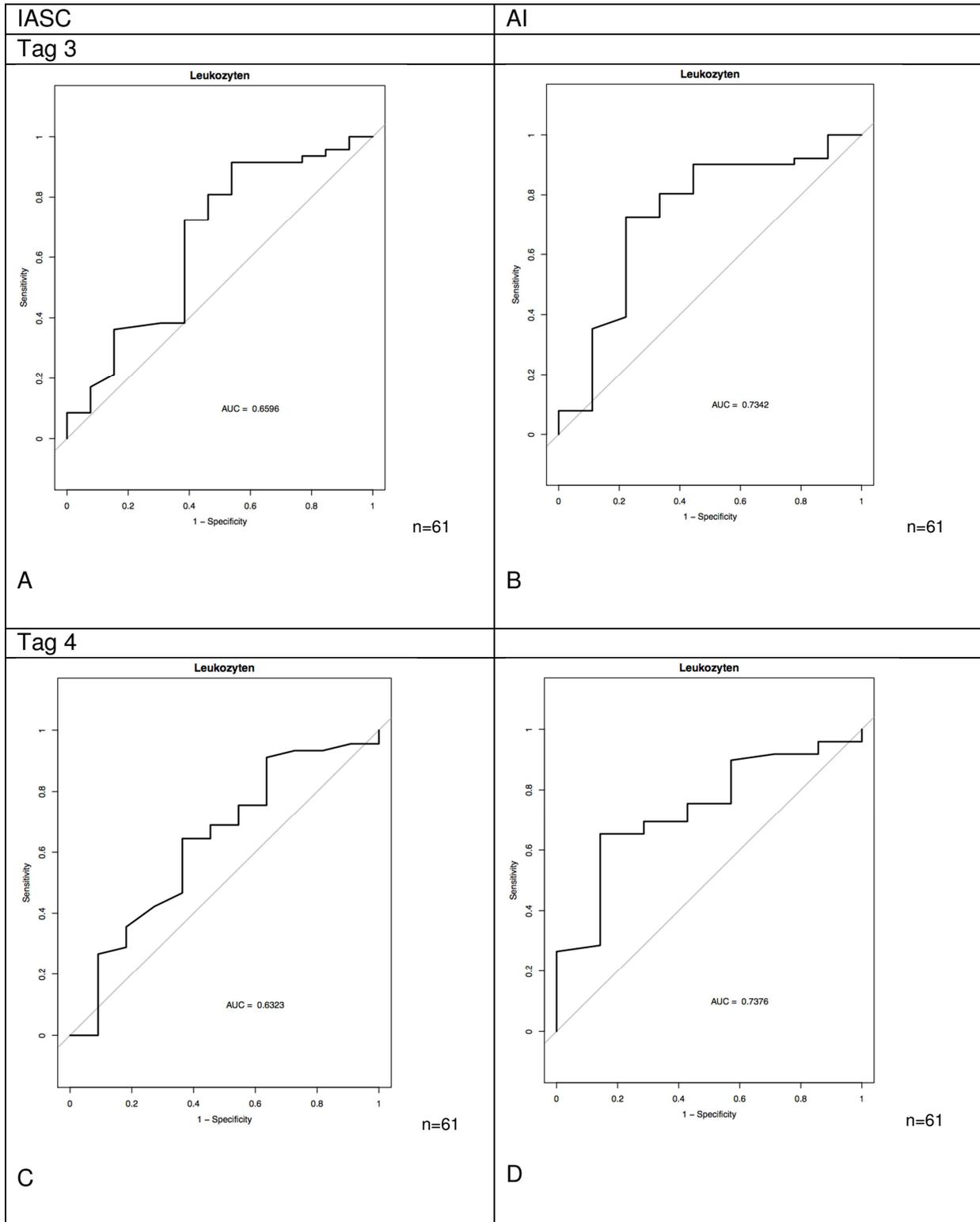


Abbildung 11 Diagnostische Sicherheit der Leukozytenzahl (G/l) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve und die dazugehörige *area under the curve* am postoperativen Tag 3 und Tag 4.

Abbildung 11A und 11C zeigen eine lediglich geringfügige Abweichung des Graphen von der Winkelhalbierenden. Mit einer AUC von 0,6596 an Tag 3 sowie von 0,6323 an Tag 4 besaß

die Messung der Leukozytenzahl (G/l) an beiden untersuchten Tagen nur geringfügige Diskriminationsfähigkeit hinsichtlich der Detektion von intrabdominalen septischen Komplikationen. Ein errechneter Grenzwert der Leukozytenzahl von 11,6 G/l an Tag 3 erzielte eine Sensitivität von 91,5% und eine Rate an falsch positiven Ergebnissen (1 – Spezifität) von 53,9%. Der Youden-Index an Tag 3 lag bei 0,3764. Im Vergleich dazu erbrachte ein *Cut-off* der Leukozytenzahl von 7,7 G/l an Tag 4 eine Sensitivität von 64,4%. Die Rate an falsch positiven Ergebnissen lag hier bei 36,4%. An Tag 4 lag der Youden-Index bei 0,2808 (Tabelle 9).

Mit einer AUC von 0,7342 an Tag 3 und von 0,7376 an Tag 4 wies die Leukozytenzahl (G/l) an beiden untersuchten Tagen eine moderate Aussagekraft bezüglich der Detektion von Anastomoseninsuffizienzen auf (Abbildung 11B und D). Ein *Cut-off* der Leukozytenzahl von 9,25 G/l an Tag 3 erzielte eine Sensitivität von 72,6% und eine Rate an falsch positiven Befunden (1 – Spezifität) von 22,3%. Ein *Cut-off* der Leukozytenzahl von 7,7 G/l an Tag 4 erzielte eine Sensitivität von 65,3 % und eine 1 – Spezifität von 14,3 %. Der Youden-Index an Tag 3 lag bei 0,5033 und an Tag 4 bei 0,5102 (Tabelle 9).

	<i>Area under the curve</i>		Youden-Index		<i>Cut-off</i>		Sensitivität		1 – Spezifität	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,6596	0,6323	0,3764	0,2808	11,6	7,7	0,9149	0,6444	0,5385	0,3636
AI	0,7342	0,7376	0,5033	0,5102	9,25	7,7	0,7255	0,6531	0,2222	0,1429

Tabelle 9: Diagnostische Sicherheit der Leukozytenzahl zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.

3.2.2. CRP

3.2.2.1. Perioperativer Verlauf der CRP-Konzentration

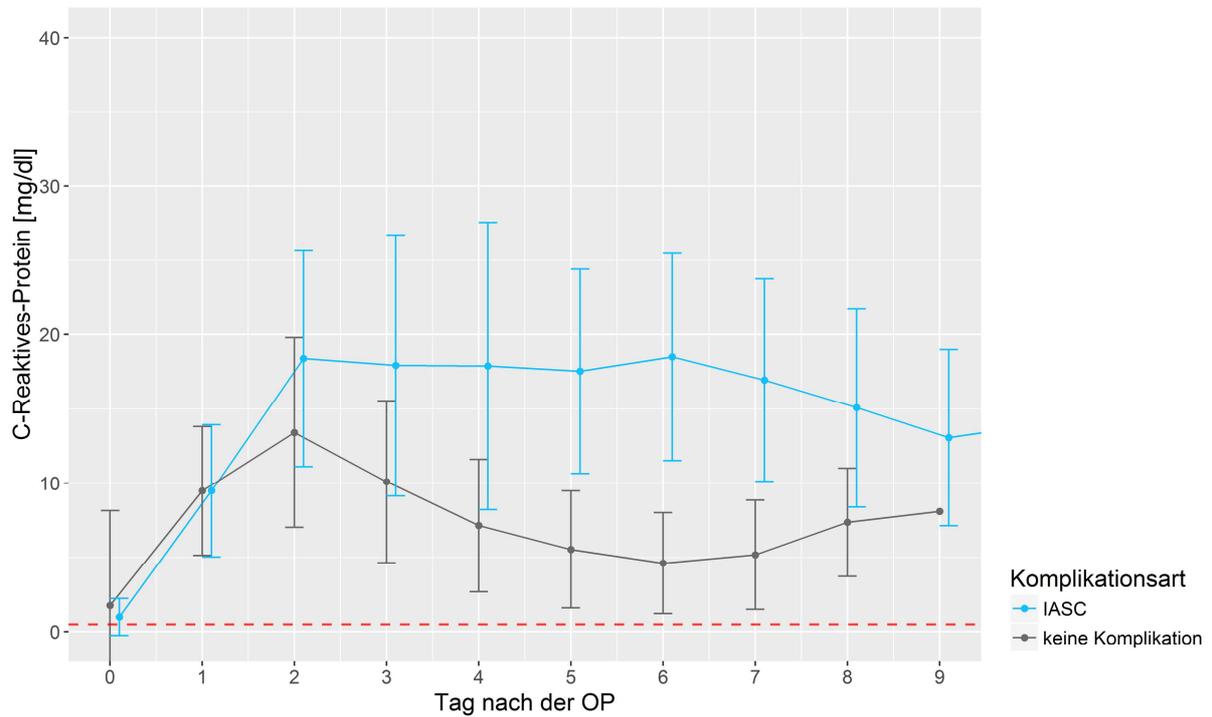


Abbildung 12 Kinetik der CRP-Konzentration (mg/dl) im Blut am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzwert von CRP ($<0,5 \text{ mg/dl}$) dar.

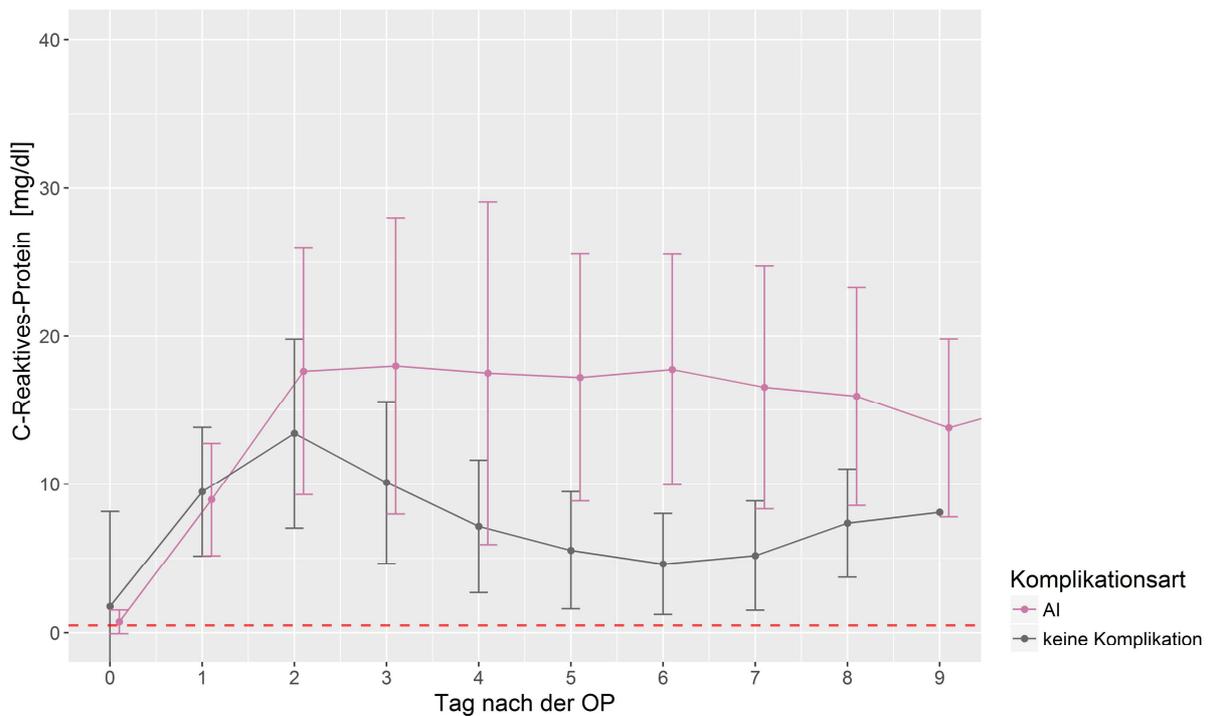


Abbildung 13 Kinetik der CRP-Konzentration (mg/dl) im Blut am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomosensuffizienz (AI) im Vergleich zu Patienten ohne postoperative Komplikation.

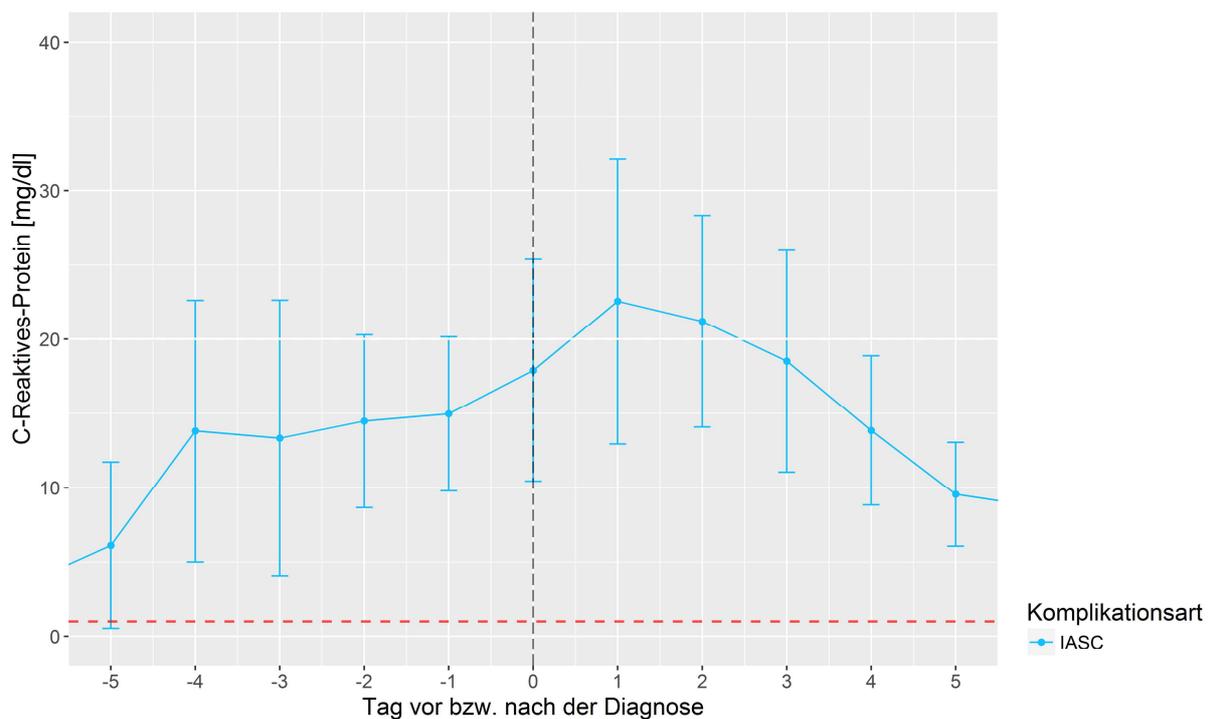


Abbildung 14: CRP-Konzentration (mg/dl) bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) 5 Tage vor Diagnosestellung (- 1 bis - 5), am Tag der Diagnosestellung (0) und an den folgenden 5 Tagen (1 bis 5) nach Diagnosestellung

In Abbildung 12 und 13 ist die perioperative Kinetik der durchschnittlichen CRP-Konzentration (mg/dl) am Tag vor der Operation sowie innerhalb der ersten 9 postoperativen Tage in Patienten ohne und mit postoperativer Komplikation (IASC, AI) gegenübergestellt. Die rot-weiß gestrichelte Linie gibt den Referenzwert von CRP (<0,5 mg/dl) an.

Patienten ohne postoperative Komplikation zeigten präoperativ, an Tag 0, eine durchschnittlich leichtgradig erhöhte CRP-Konzentration. Postoperativ folgte ein rapider Anstieg der CRP-Konzentration mit den höchsten Werten an Tag 2. In dieser Gruppe fanden sich am 2. postoperativen Tag durchschnittliche Werte von mehr als 10 mg/dl. Es folgte ein rascher Abfall der CRP-Konzentration im weiteren postoperativen Verlauf. Normwerte mit Konzentrationen von weniger 0,5 mg/dl wurden im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum im Durchschnitt nie erreicht.

Sowohl Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch Patienten mit Anastomoseninsuffizienz zeigten postoperativ einen rapiden und hochgradigen Anstieg der CRP-Konzentration. In beiden Komplikationsgruppen wurde am 2. postoperativen Tag ein Maximalwert der CRP-Konzentration mit Werten von mehr als 15 mg/dl erreicht. Sowohl Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch Patienten mit Anastomoseninsuffizienz wiesen im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum eine fehlende Normalisierung der CRP-Konzentration auf. In beiden Komplikationsgruppen waren

persistierend erhöhte Werte von mehr als 15 mg/dl innerhalb der ersten 8 postoperativen Tage zu messen.

Abbildung 14 zeigt die Dynamik der CRP-Konzentration bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation 5 Tage vor Diagnosestellung (Tag -5 bis -1), am Tag der Diagnose (Tag 0) und 5 Tage nach Diagnosestellung (Tag 1 bis Tag 5). Am Folgetag des Eingriffs (Tag 1) ist ein maximales Konzentrationsniveau mit Werten von mehr als 20 mg/dl wahrzunehmen, welches dann im weiteren postoperativen Verlauf rasch absinkt.

3.2.2.2. ROC-Analyse

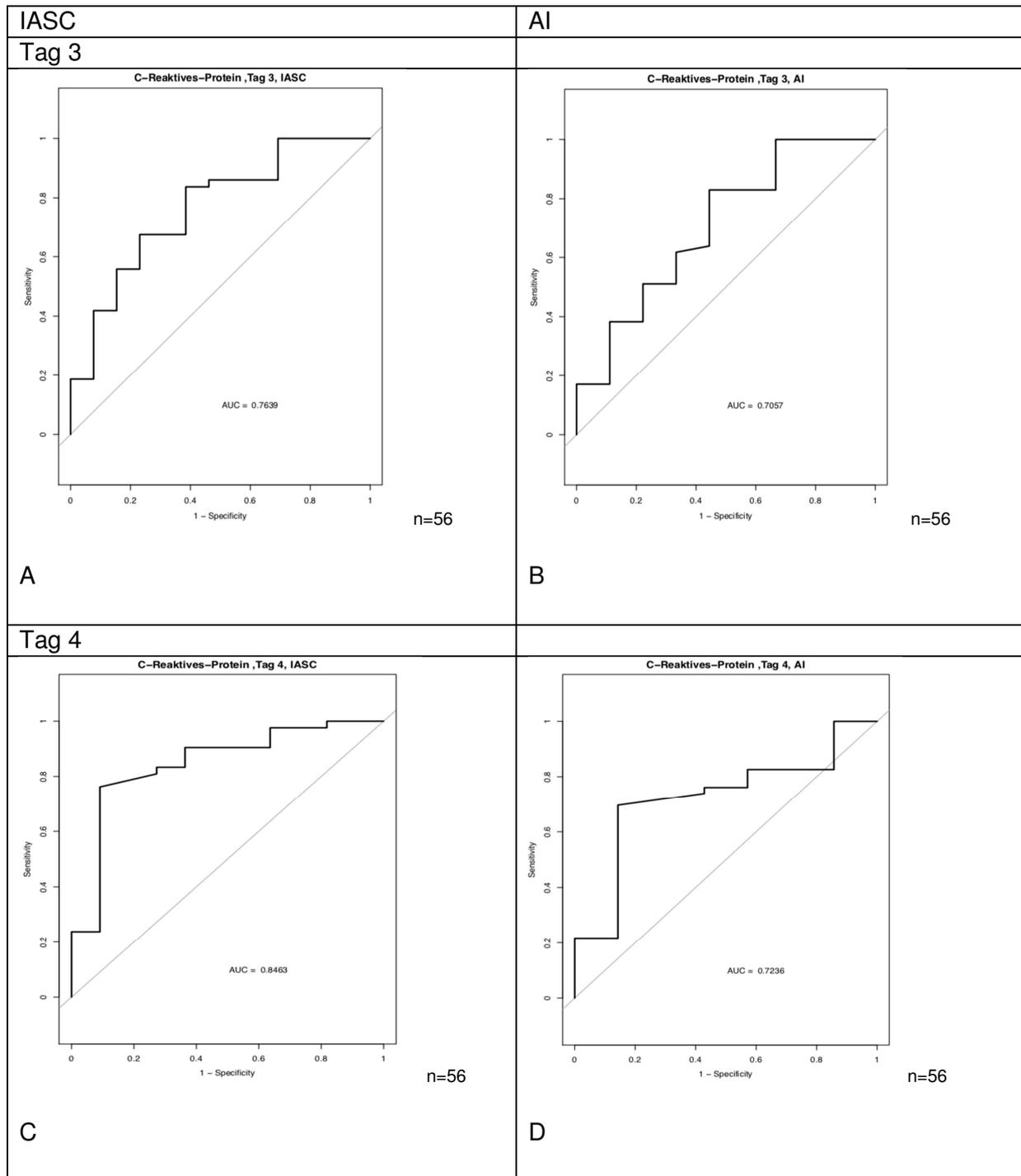


Abbildung 15 Diagnostische Sicherheit der CRP-Konzentration (mg/dl) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve und die dazugehörige *area under the curve* am postoperativen Tag 3 und Tag 4.

Insbesondere an Tag 4 nach Operation zeigte CRP mit einer AUC von 0,8463 eine exzellente Diskriminationsfähigkeit hinsichtlich der Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (Abbildung 15C). Ein errechneter Grenzwert der CRP-Konzentration von 9,4 mg/dl am 4. postoperativen Tag erzielte eine Sensitivität von 76,2 % und eine Rate an falsch positiven Testergebnissen (1 – Spezifität) von lediglich 9,1 %. Der Youden-Index war 0,671

Ergebnisse

(Tabelle 10). Im Hinblick auf die Detektion von Nahtinsuffizienzen erzielte CRP an Tag 4 nach Operation mit einer AUC von 0,7236 zufriedenstellende diagnostische Güte (Abbildung 15D). Ein *Cut-off* von 9,4 mg/dl an Tag 4 nach Operation lieferte eine Sensitivität von 69,6% und eine 1 – Spezifität von 14,3%. Der Youden-Index an diesem Tag lag bei 0,5528 (Tabelle 10).

Die Messung der CRP-Konzentration an Tag 3 erbrachte mit einer AUC von 0,7638 akzeptable diagnostische Sicherheit bezüglich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen (Abbildung 15A). Ein errechneter Grenzwert der CRP-Konzentration von 14,8 mg/dl an Tag 3 erbrachte hierbei eine Sensitivität von 83,7%, eine Rate an falsch positiven Befunden (1 – Spezifität) von 38,5% und einen Youden-Index von 0,4526. Hinsichtlich der Detektion von Anastomoseninsuffizienzen wies CRP an Tag 3 eine AUC von 0,7056 und somit ebenfalls zufriedenstellende diagnostische Sicherheit auf. Bei einem *Cut-off* von 16,55 mg/dl zeigte CRP eine Sensitivität von 76,6% und eine 1 – Spezifität von 44,4%. Der Youden-Index lag bei 0,3853 (Tabelle 10).

	<i>Area under the curve</i>		Youden-Index		<i>Cut-off</i>		Sensitivität		1 – Spezifität	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,7639	0,8463	0,4526	0,671	14,8	9,4	0,8372	0,7619	0,3846	0,0909
AI	0,7057	0,7236	0,3853	0,5528	16,55	9,4	0,8298	0,6957	0,4444	0,1429

Tabelle 10: Diagnostische Sicherheit von CRP (mg/dl) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienz (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.

3.2.3. PCT

3.2.3.1. Perioperativer Verlauf der PCT-Konzentration

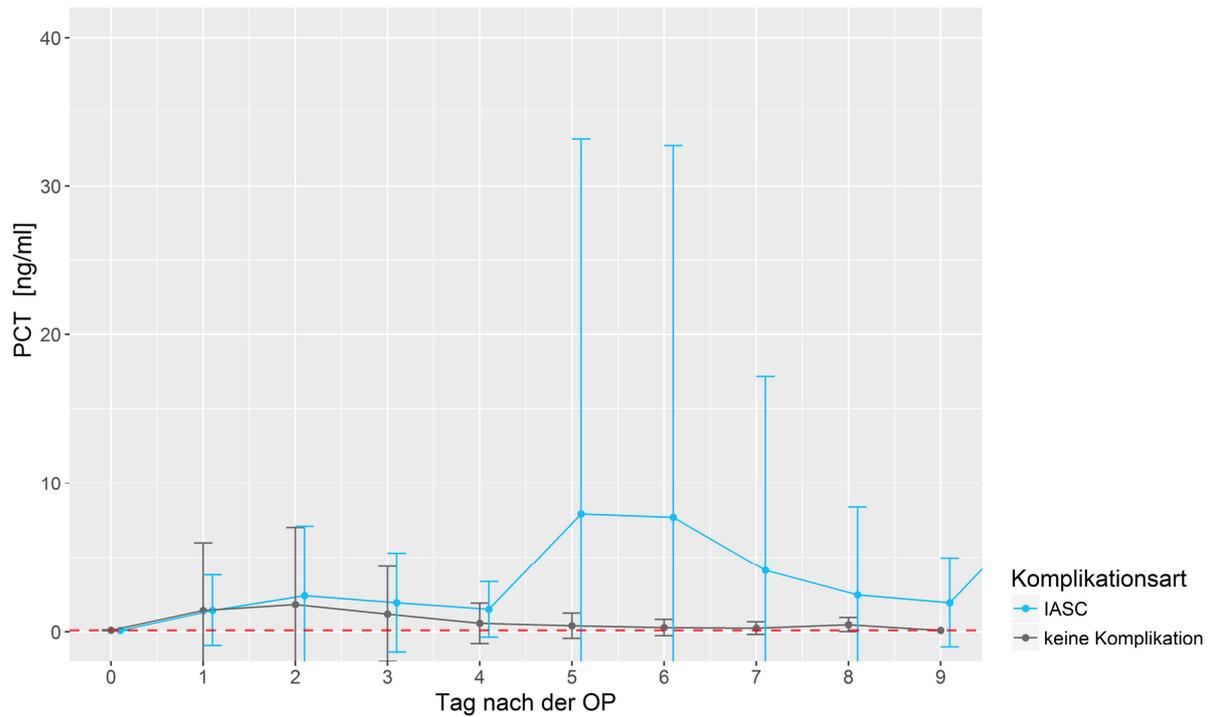


Abbildung 16 Durchschnittliche Konzentration von PCT (ng/ml) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikationen (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzwert von PCT ($< 0,1 \text{ ng/ml}$) dar.

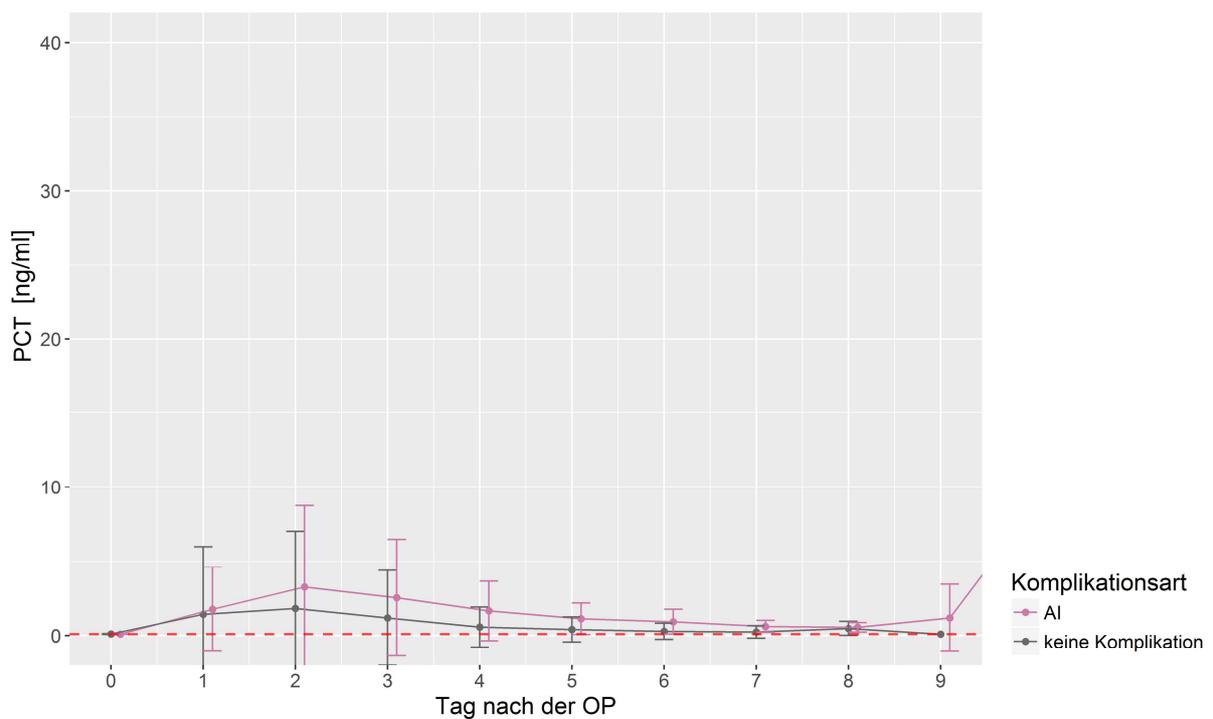


Abbildung 17 Durchschnittliche Konzentration von PCT (ng/ml) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomosensuffizienz (AI) im Vergleich mit Patienten ohne Komplikation.

Abbildung 16 und 17 zeigen den perioperativen Verlauf der durchschnittlichen PCT-Konzentration (ng/ml) bei Patienten ohne und mit postoperativer Komplikation (IASC, AI). Die eingezeichnete rot-weiß gestrichelte Linie zeigt den Referenzwert von PCT ($< 0,1$ ng/ml) an.

Präoperativ, an Tag 0, wiesen alle drei Patientengruppen (keine Komplikation, IASC, AI) eine durchschnittlich normwertige PCT-Konzentration auf. Abbildung 16 und 17 zeigen, dass Patienten ohne postoperative Komplikation innerhalb der ersten 2 postoperativen Tage einen kurzfristigen und dezenten Anstieg der PCT-Konzentration mit Maximum an Tag 2 aufwiesen. Es folgte eine sukzessive Normalisierung der PCT-Konzentration ohne wesentlichen erneuten Anstieg im gesamten weiteren Beobachtungszeitraum (Tag 3 bis Tag 9).

Im Vergleich zu Patienten ohne Komplikation war bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation innerhalb der ersten 4 postoperativen Tage ein ähnlicher Kurvenverlauf zu verzeichnen (Abbildung 16). Postoperativ, an Tag 1 und Tag 2, zeigte sich ein kurzfristiger, dezenter Anstieg der PCT-Konzentration. Es folgte ein langsamer Abfall an Tag 3 und Tag 4. Abweichend davon zeigte sich in diesem Beobachtungszeitraum (Tag 1 – Tag 4) lediglich eine durchschnittlich höhere PCT-Konzentration bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation. Im Gegensatz zu Patienten ohne Komplikation wiesen Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation im weiteren Verlauf einen markanten Anstieg der PCT-Konzentration mit Spitzenwert am 5. Tag nach Operation auf. Hierbei wurden Maximalwerte von durchschnittlich mehr als 7 ng/ml erreicht. Dem *Peak* an Tag 5 folgte ein langsamer Abfall der PCT-Konzentration im weiteren Beobachtungszeitraum (Tag 6 bis Tag 9).

Bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz konnte ein ähnlicher Kurvenverlauf wie bei solchen ohne Komplikation beobachtet werden (Abbildung 17). Nach kurzfristigem und geringgradigem Anstieg der PCT-Konzentration und Maximum an Tag 2 folgte eine schrittweise Normalisierung im weiteren postoperativen Verlauf. Unterschiedlich zeigte sich lediglich eine verzögerte Normalisierung der PCT-Konzentration sowie eine durchschnittlich höhere PCT-Konzentration bei Patienten mit diagnostizierter Anastomoseninsuffizienz.

3.2.3.2. ROC-Analyse

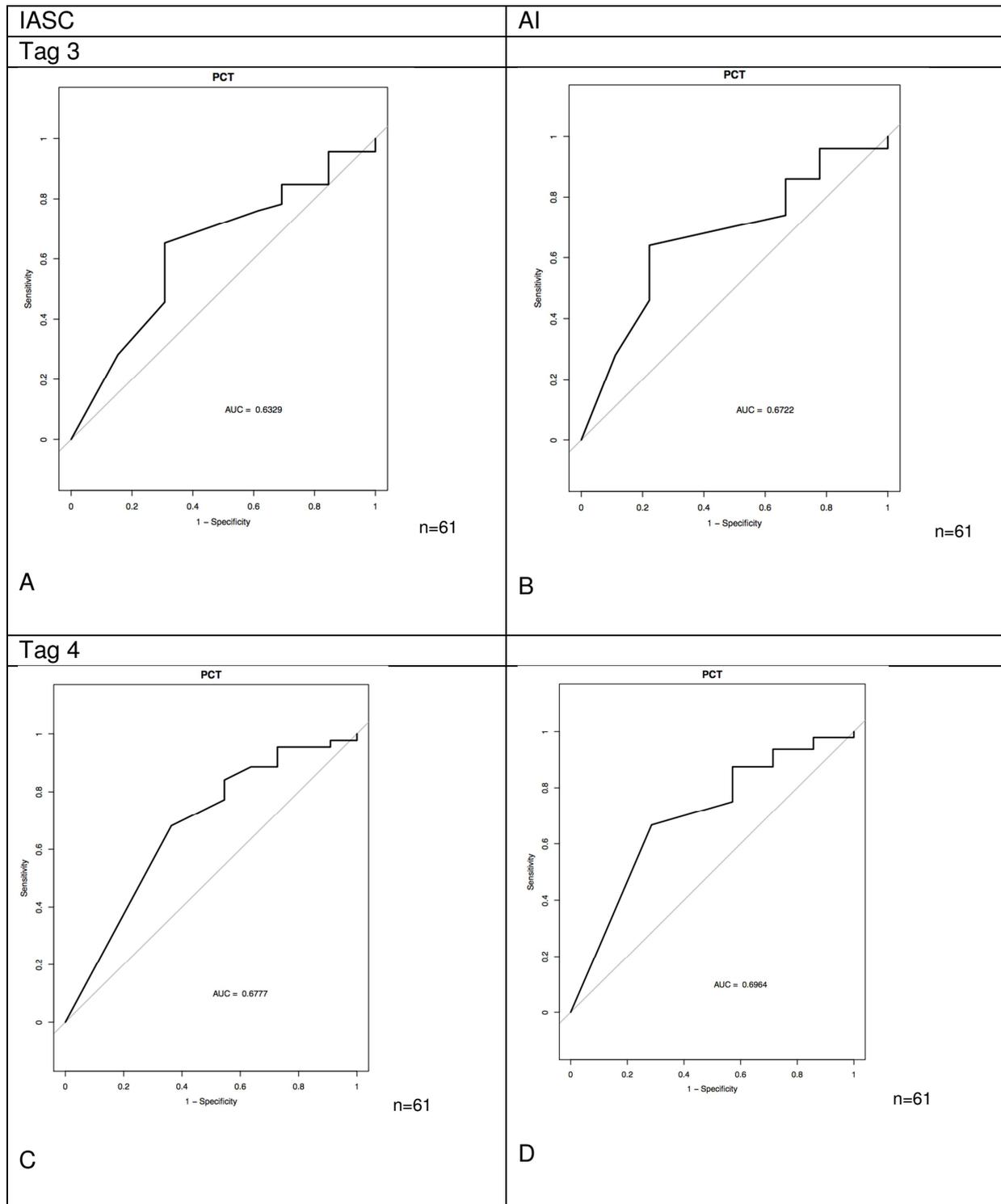


Abbildung 18 Diagnostische Sicherheit der PCT-Konzentration (ng/ml) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.

PCT zeigte an Tag 3 nach Operation mit einer AUC von 0,6329 geringfügige diagnostische Güte für die Detektion intraabdominaler septischer Komplikationen (Abbildung 18A). Ein *Cut-off* der PCT-Konzentration von 0,45 ng/ml war mit einer Sensitivität von 65,2% und einer 1 – Spezifität von 30,77 % assoziiert. Der Youden-Index nahm einen Wert von 0,3445 an (Tabelle

Ergebnisse

11). Im Hinblick auf die Detektion von Anastomoseninsuffizienzen wies PCT an Tag 3 eine AUC von 0,6722 und damit ebenso geringfügige diagnostische Güte auf (Abbildung 18B). Es wurde eine Sensitivität von 64,0% und eine Rate an falsch positiven Testergebnissen (1 – Spezifität) von 22,2% bei einem *Cut-off* von 0,45 ng/ml beobachtet. Der Youden-Index lag bei 0,4178 (Tabelle 11).

Durch Procalcitonin konnte an Tag 4 eine AUC von 0,6777 und somit ebenfalls unzufriedenstellende diagnostische Güte hinsichtlich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen erreicht werden (Abbildung 18C). Ein *Cut-off* der PCT Konzentration von 0,25 ng/ml erbrachte eine Sensitivität von 68,2% und eine 1 – Spezifität von 36,4%. Der Youden-Index lag bei 0,3182 (Tabelle 11). Auch hinsichtlich des Auftretens von Anastomoseninsuffizienzen zeigte die an Tag 4 erhobene PCT-Messung geringfügige diagnostische Sicherheit. Hierbei wurde eine AUC von 0,6964 erreicht (Abbildung 18D). Es wurde eine Sensitivität von 66,7% und eine 1 – Spezifität von 28,6% bei einem *Cut-off* von 0,25 ng/ml erzielt. Der Youden-Index lag bei 0,381 (Tabelle 11).

	<i>Area under the curve</i>		Youden-Index		<i>Cut-off</i>		Sensitivität		1 – Spezifität	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,6329	0,6777	0,3445	0,3182	0,45	0,25	0,6522	0,6818	0,3077	0,3636
AI	0,6722	0,6964	0,4178	0,381	0,45	0,25	0,64	0,6667	0,2222	0,2857

Tabelle 11: Diagnostische Sicherheit von PCT (ng/ml) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.

3.2.4. Boxplotsdarstellung der klinisch etablierten Marker

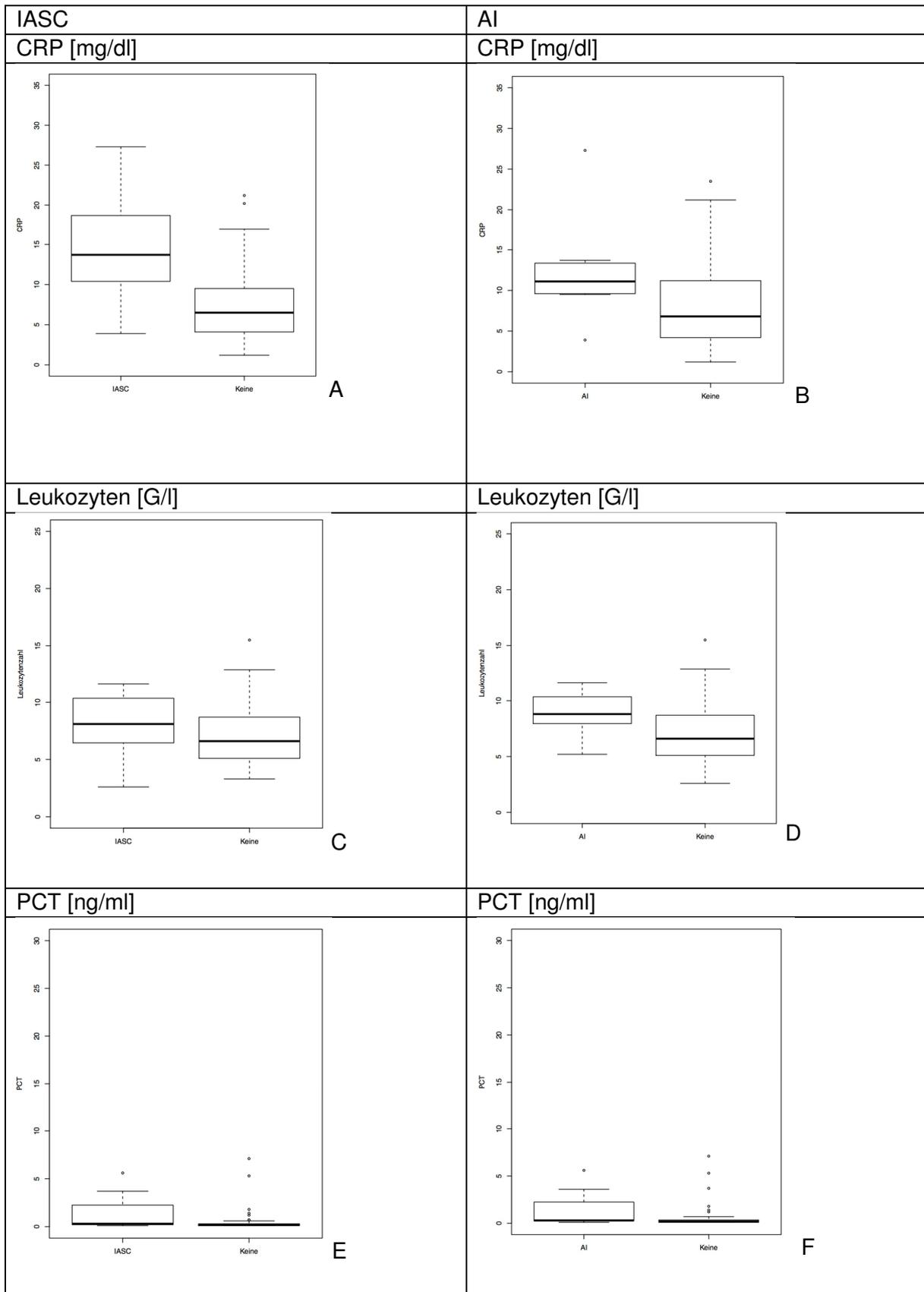


Abbildung 19 Boxplotsdarstellung der klinisch etablierten Marker Leukozyten (G/l), CRP (mg/dl) und PCT (ng/ml) am 4. postoperativen Tag bei Patienten ohne und mit postoperativer Komplikation (IASC, AI).

Abbildung 19 stellt die Boxplots der klinisch etablierten Marker Leukozyten, CRP und PCT am vierten postoperativen Tag bei Patienten ohne Komplikation sowie solchen mit postoperativer septischer Komplikation bzw. Anastomoseninsuffizienz dar. Sämtliche Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation zeigten höhere CRP-Werte als Patienten ohne Komplikation. Auch zwischen Patienten ohne Komplikationen und der Subgruppe der Anastomoseninsuffizienzen zeigte sich ein maßgeblicher Unterschied in der mittleren CRP-Konzentration. Patienten mit Anastomoseninsuffizienz zeigten höhere CRP-Konzentrationen als Patienten ohne Komplikation (Abbildung 19A und B).

Sowohl Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch Patienten mit Anastomoseninsuffizienz zeigten lediglich geringgradig höhere Leukozytenkonzentrationen (Abbildung 19C und D).

Bei Vergleich der PCT-Konzentrationen ist zu erkennen, dass sich diese zwischen Patienten mit Komplikation (IASC, AI) und Patienten ohne Komplikation am 4. postoperativen Tag nahezu kaum unterscheiden (Abbildung 19E und F).

3.3. Innovative experimentelle Entzündungsmarker

3.3.1. IL-6

3.3.1.1. Perioperativer Verlauf der IL-6-Konzentration

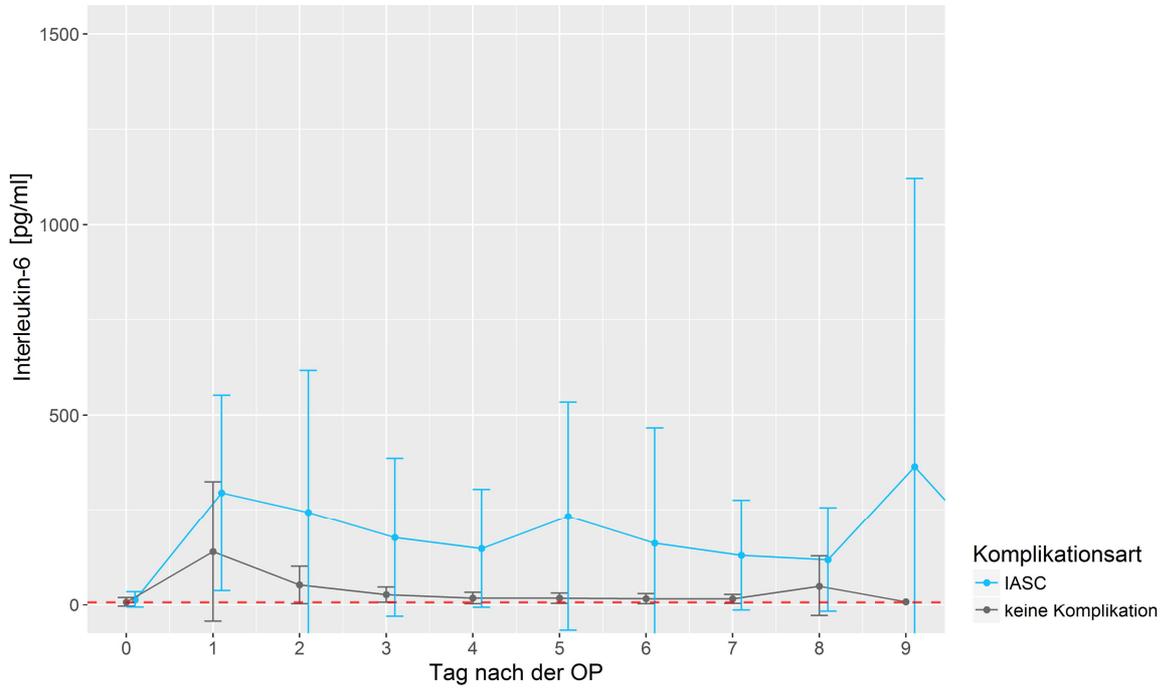


Abbildung 20 Kinetik der durchschnittlichen IL-6-Konzentration (mg/dl) im Blut am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzwert von IL-6 (pg/ml) dar.

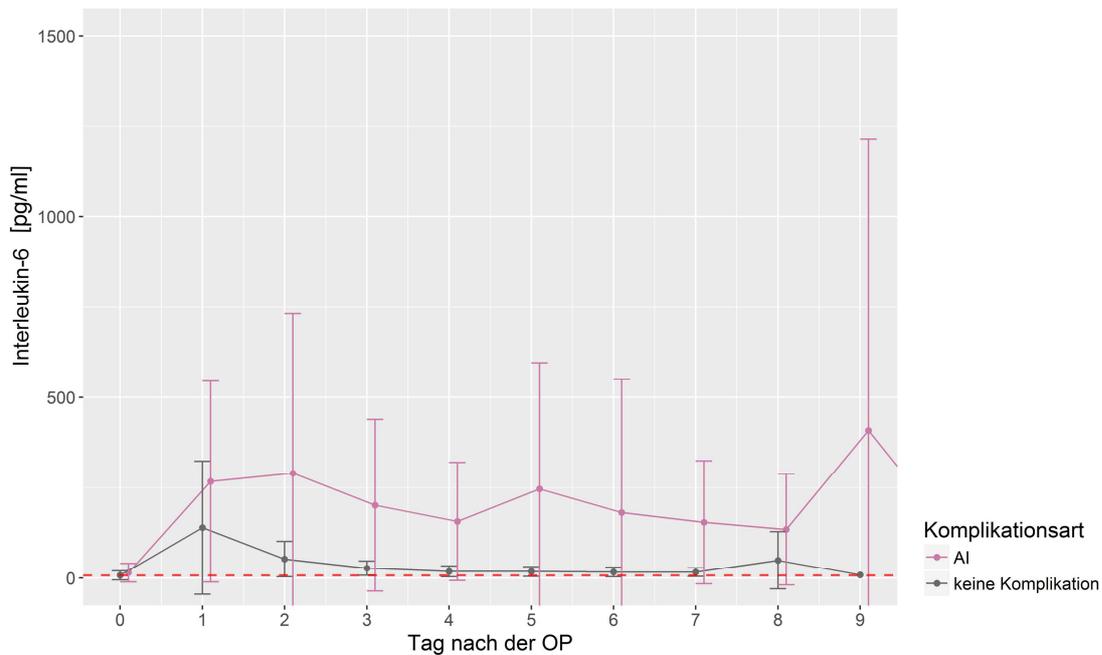


Abbildung 21 Kinetik der durchschnittlichen IL-6-Konzentration (pg/ml) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomosensinsuffizienz (AI) im Vergleich zu Patienten ohne Komplikation.

Den Abbildungen 20 und 21 ist der perioperative Verlauf der durchschnittlichen IL-6-Konzentration (pg/ml) bei Patienten die keine Komplikation erlitten, sowie bei solchen mit Komplikation zu entnehmen (IASC, AI). Die eingezeichnete rot-weiß gestrichelte Linie gibt den Referenzwert von IL-6 (<7,5 pg/ml) an.

Patienten ohne Komplikation zeigten vor der Operation, an Tag 0, durchschnittlich normwertige IL-6-Konzentrationen. Am ersten Tag nach Operation folgte ein kurzfristiger und rapider Anstieg der durchschnittlichen IL-6-Messwerte. Nach dem Erreichen des maximalen Konzentrationsniveaus am ersten postoperativen Tag folgte ein Abfall des Markers bereits am 2. postoperativen Tag und eine im Verlauf sukzessive Normalisierung im weiteren Beobachtungszeitraum.

Demgegenüber waren sowohl bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz präoperativ leichtgradig erhöhte IL-6-Konzentrationen zu verzeichnen. Postoperativ zeigte sich an Tag 1 in beiden Komplikationsgruppen (IASC, AI) ein initialer rapider Anstieg der IL-6-Konzentration. In beiden Komplikationsgruppen war ein Spitzenwert an Tag 2 nach Operation zu beobachten. Im Gegensatz zu Patienten ohne Komplikation wurden postoperativ sowohl bei Studienteilnehmern mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch bei solchen mit Anastomoseninsuffizienz persistierend deutlich erhöhte IL-6-Konzentrationen im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum nachgewiesen.

3.3.1.2. ROC-Analyse

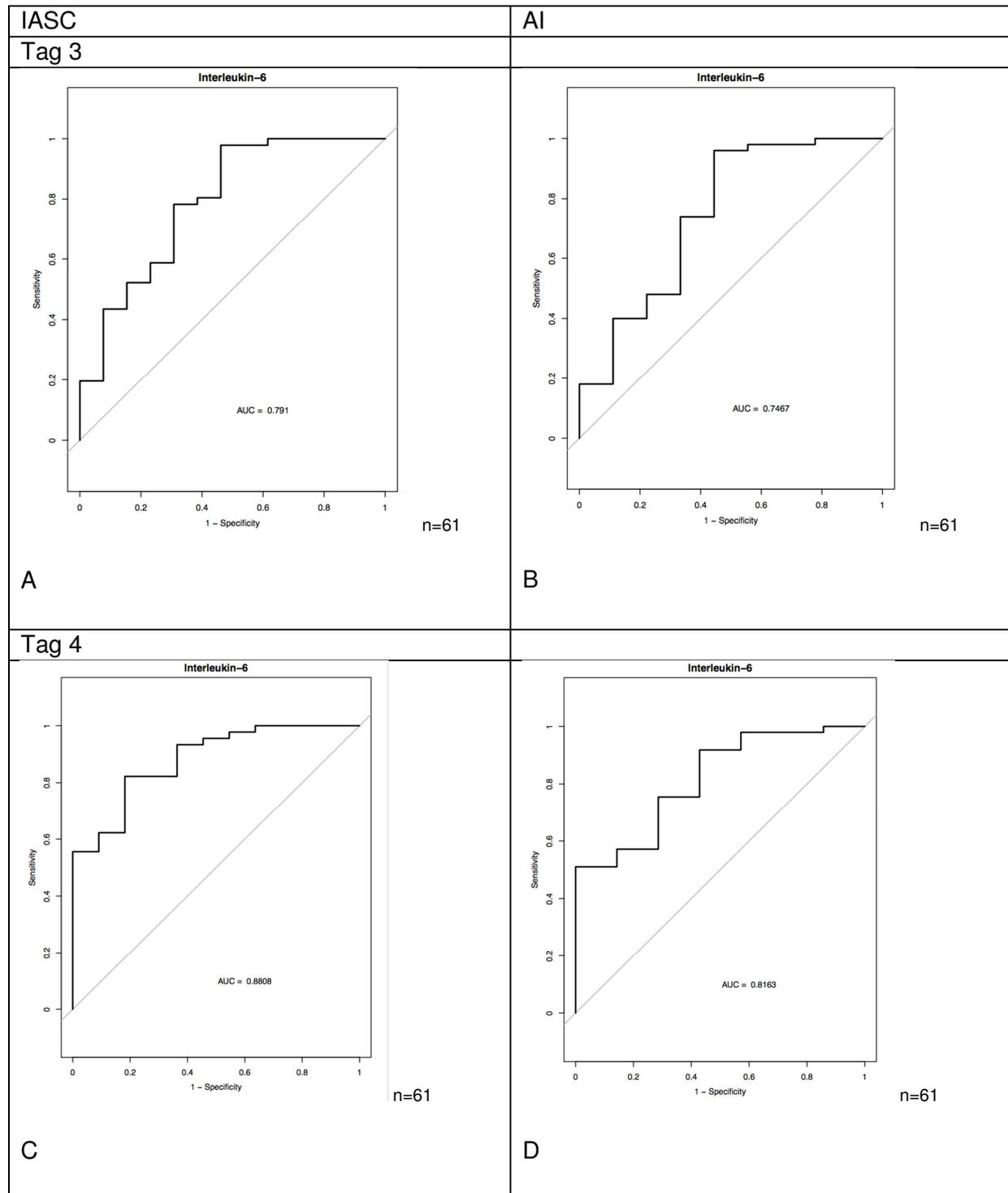


Abbildung 22 Diagnostische Sicherheit der IL-6-Konzentration (pg/ml) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.

Insbesondere an Tag 4 nach Operation zeigte IL-6 mit einer AUC von 0,8808 exzellente Diskriminationsfähigkeit hinsichtlich des Auftretens von intraabdominalen septischen Komplikationen (Abbildung 22C). Ein *Cut-off* der IL-6-Konzentration von 27,0 pg/ml am 4. postoperativen Tag erzielte eine Sensitivität von 82,2% und eine 1 – Spezifität von 18,2%. Der Youden-Index betrug 0,6404 (Tabelle 12). Im Hinblick auf die Detektion von

Ergebnisse

Nahtinsuffizienzen war IL-6 mit mit einer AUC von 0,8163 an Tag 4 assoziiert und zeigte damit definitionsgemäß exzellente diagnostische Güte (Abbildung 22D). Ein *Cut-off* von 15,8 pg/ml erzielte hierbei eine Sensitivität von 51% und eine Rate an falsch positiven Befunden von (1 – Spezifität) von 0%. Der Youden-Index lag bei 0,5102 (Tabelle 12).

Die Messung von IL-6 am dritten postoperativen Tag zeigte mit einer AUC von 0,7467 moderate Vorhersagekraft für das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz (Abbildung 22B). Ein *Cut-off-Wert* von 93,55 pg/ml war am 3. postoperativen Tag mit einer Sensitivität von 96% und einer 1 – Spezifität von 44,4% vergesellschaftet. Der Youden-Index lag bei 0,5156 (Tabelle 12). Die Vorhersagekraft für das Auftreten von intraabdominalen septischen Komplikationen an Tag 3 war mit einer AUC von 0,791 moderat. (Abbildung 22A). Ein Grenzwert von 84,45 pg/ml am 3. postoperativen Tag hatte eine Sensitivität von 97,8% und eine Rate an falsch positiven Testergebnissen (1 – Spezifität) von 46,2%. Der Youden-Index betrug 0,5167 (Tabelle 12).

	<i>Area under the curve</i>		Youden-Index		<i>Cut-off</i>		Sensitivität		1 – Spezifität	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,791	0,8808	0,5167	0,6404	84,45	27,0	0,9783	0,8222	0,4615	0,1818
AI	0,7467	0,8163	0,5156	0,5102	93,55	15,8	0,96	0,5102	0,4444	0

Tabelle 12: Diagnostische Sicherheit von IL-6 (pg/ml) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.

3.3.2. mHLA-DR-Expression

3.3.2.1. Perioperativer Verlauf der mHLA-DR-Expression

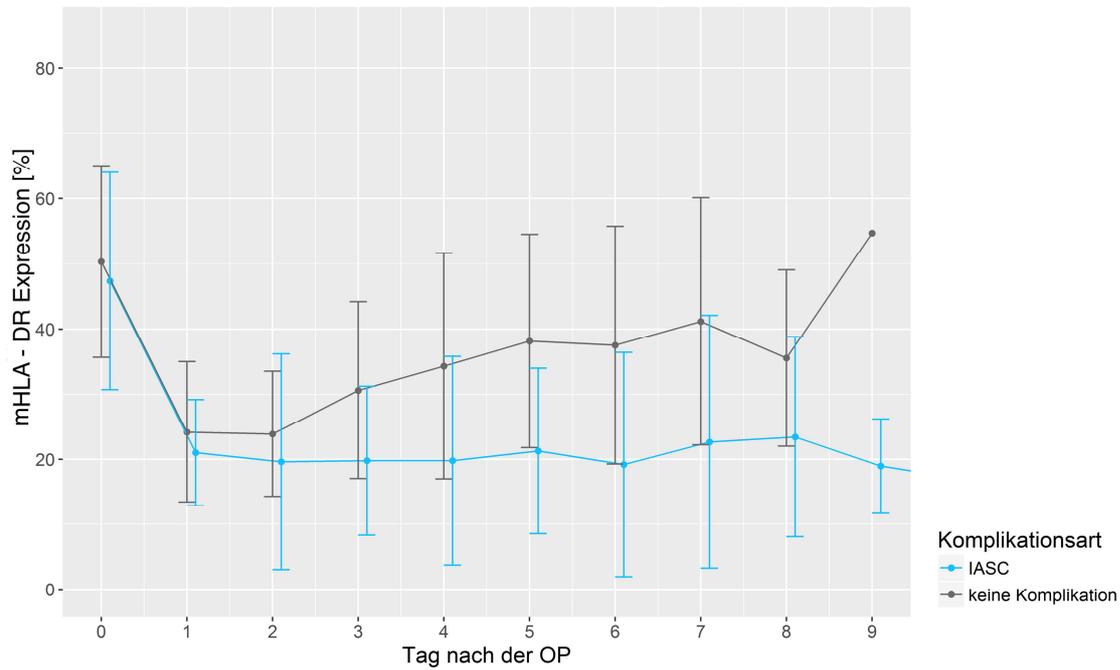


Abbildung 23 Kinetik der durchschnittlichen mHLA-DR-Expression (%) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Aktuell ist kein definierter physiologischer Referenzbereich der mHLA-DR-Expression bekannt, daher fehlt dieser in der Abbildung.

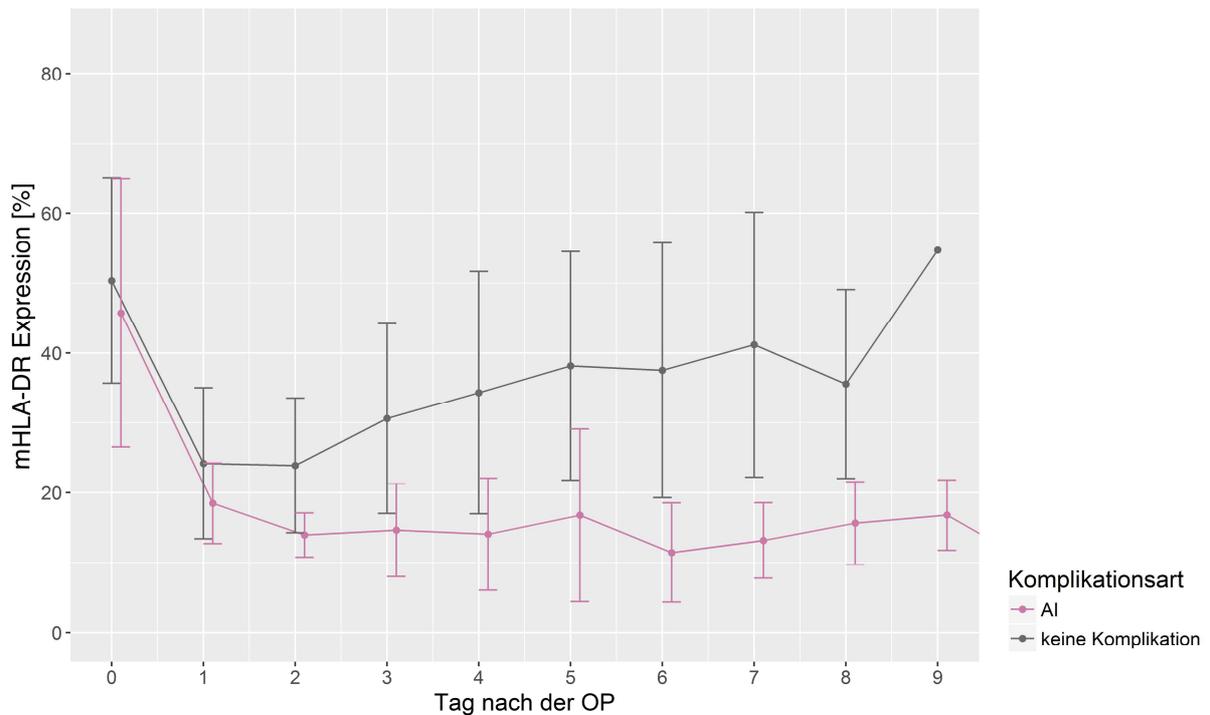


Abbildung 24 Kinetik der durchschnittlichen mHLA-DR-Expression (%) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomosensinsuffizienz (AI) und ohne postoperative Komplikation im Vergleich. Aktuell ist kein definierter physiologischer Referenzbereich der mHLA-DR-Expression bekannt, daher fehlt dieser in der Abbildung.

Abbildung 23 und 24 vergleichen die perioperative Kinetik der durchschnittlichen mHLA-DR-Expression (%) bei Patienten ohne und mit postoperativer intraabdominaler septischer Komplikation bzw. Anastomoseninsuffizienz. Aktuell ist kein definierter physiologischer Referenzbereich der mHLA-DR-Expression bekannt, sodass dieser in den Abbildungen fehlt.

Sowohl bei Patienten ohne postoperative Komplikation als auch bei solchen mit postoperativer intraabdominaler septischer Komplikation war präoperativ eine mHLA-DR-Expression von mehr als 45% zu verzeichnen. Patienten ohne postoperative Komplikation wiesen eine kurzzeitige Immundefizienz an Tag 1 und 2 mit Werten von weniger als 25% auf. Nach kurzzeitig verminderter mHLA-DR-Expression folgten steigende Werte ab dem dritten Tag nach Operation. Bei komplikationsfreien Patienten lies sich ab dem 3. postoperativen Tag eine „Erholung“ des Immunsystems und eine stetige Zunahme der mHLA-DR-Expression nachweisen. Am 9. Tag nach Operation wurden in der Gruppe ohne postoperative Komplikation wieder Ausgangswerte erreicht. Demgegenüber zeigten Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation postoperativ eine persistierend verminderte mHLA-DR-Expression über den gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum (Tag 1 bis Tag 9). Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation wiesen im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum eine persistierend niedrige mHLA-DR-Expression von weniger als 25% auf.

Abbildung 24 stellt die prozentuale mHLA-DR-Expression bei Patienten mit vorliegender Anastomoseninsuffizienz und bei Patienten ohne Komplikation gegenüber. Auch hier zeigte sich, dass Patienten mit Anastomoseninsuffizienz postoperativ kein vollständiges Wiedererreichen der präoperativen mHLA-DR-Expression aufwiesen. Im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum wurde in Patienten mit vorliegender Nahtinsuffizienz eine mHLA-DR-Expression von 20% nie überschritten. Gegensätzlich dazu wurden sowohl bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch bei Patienten mit Nahtinsuffizienz eine postoperativ persistierend niedrige mHLA-DR-Expression beobachtet.

3.3.2.2. ROC-Analyse

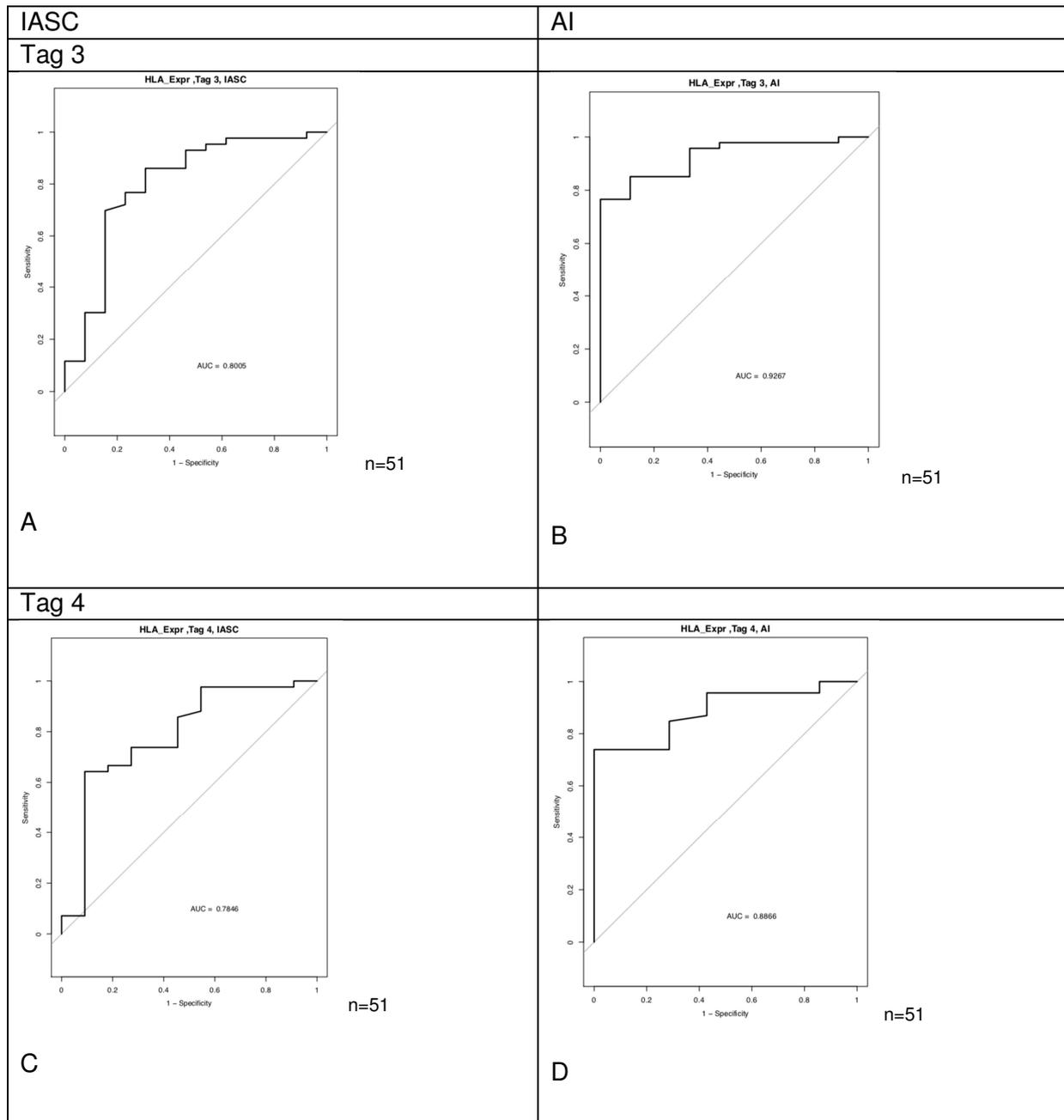


Abbildung 25 Diagnostische Sicherheit der mHLA-DR-Expression (%) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.

Die Messung der mHLA-DR-Expression an Tag 3 ergab mit einer AUC von 0,9267 herausragende Vorhersagekraft zur Detektion von Anastomoseninsuffizienzen (Abbildung 25B). Ein Grenzwert von 43,4% erzielte eine Sensitivität von 76,6% und eine Rate an falsch positiven Testergebnissen von (1 – Spezifität) von 0% (Tabelle 13). Auch an Tag 4 wies mHLA-DR mit einer AUC von 0,8866 ausgezeichnete diagnostische Sicherheit bezüglich der Prädiktion von Nahtinsuffizienzen auf (Abbildung 25D). Ein *Cut-off* der von 41,6 % erzielte eine Sensitivität von 69,4 % und eine 1 – Spezifität von 0%. Der Youden-Index an Tag 3 betrug 0,766 und an Tag 4 0,7391 (Tabelle 13).

Mit Blick auf das Auftreten von intraabdominalen septischen Komplikationen ergab der Biomarker an Tag 3 eine AUC von 0,8005 und somit sehr gute Diskriminationsfähigkeit (Abbildung 25A). Ein hier berechneter Grenzwert von 45,8% erzielte eine Sensitivität von 86,1% und eine 1 – Spezifität von 30,7%. Der Youden-Index betrug 0,5528 (Tabelle 13). Die Messung an Tag 4 zeigte mit einer AUC von 0,7846 moderate Vorhersagekraft (Abbildung 25B). Hierbei ergab ein *Cut-off* von 36,5% eine Sensitivität von 64,3% und eine 1 – Spezifität von 9,1% (Tabelle 13).

	Area under the curve		Youden-Index		Cut-off		Sensitivität		1 – Spezifität	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,8005	0,7846	0,5528	0,5519	45,8	36,5	0,8605	0,6429	0,3077	0,0909
AI	0,9267	0,8866	0,766	0,7391	43,4	41,6	0,766	0,7391	0	0

Tabelle 13: Diagnostische Sicherheit der mHLA-DR-Expression zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) bzw. Anastomosensuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.

3.3.3. Endotoxin

3.3.3.1. Perioperativer Verlauf der Endotoxin-Aktivität

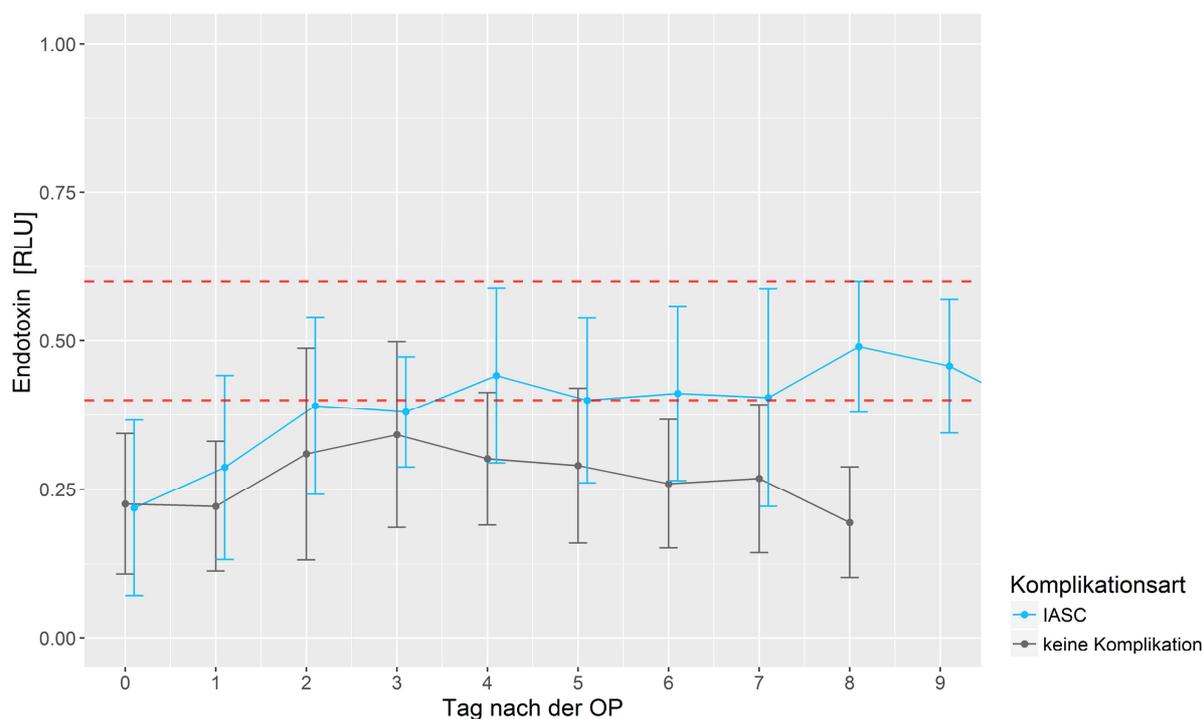


Abbildung 26 Kinetik der durchschnittlichen Endotoxin-Aktivität (RLU) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelten Linien unterteilen in *Low level* ($\leq 0,39$ RLU) *Middle Level* (0,40 – 0,59 RLU) und *High Level* ($\geq 0,60$ RLU) Endotoxin-Aktivität.

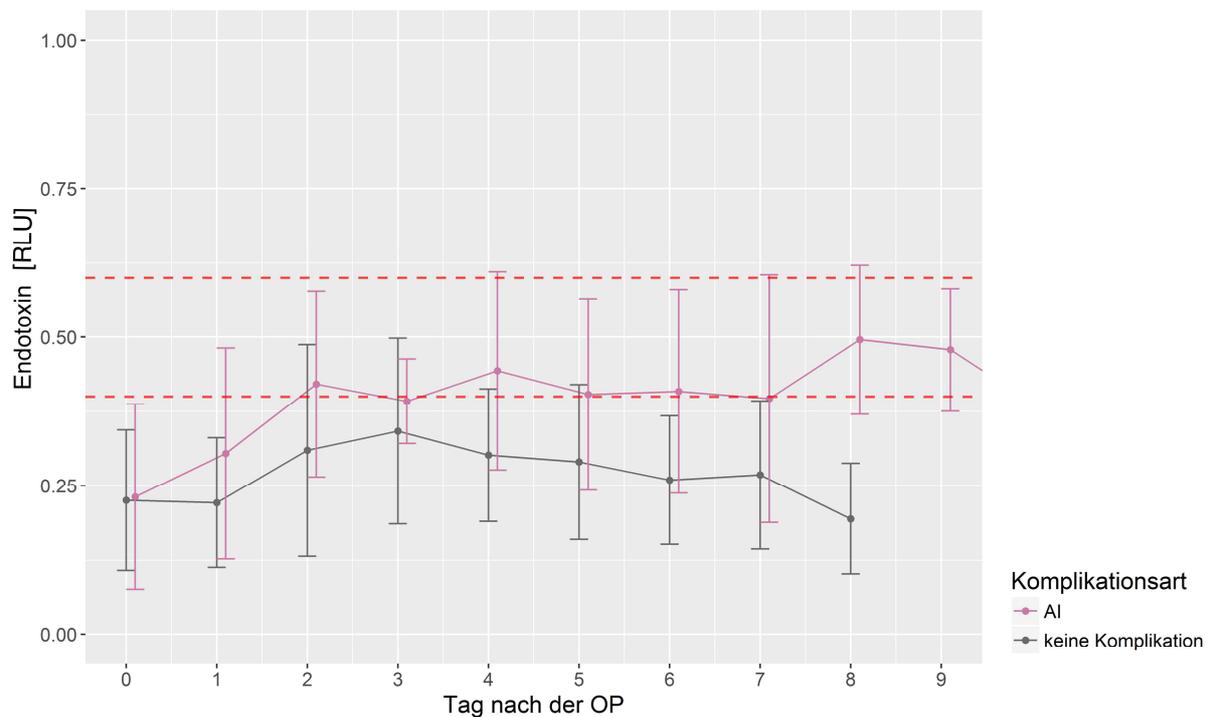


Abbildung 27 Kinetik der durchschnittlichen Endotoxin-Aktivität (RLU) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) im Vergleich mit Patienten ohne postoperative Komplikation.

In den Abbildungen 26 und 27 ist die durchschnittliche Endotoxinaktivität (RLU) bei Patienten ohne und bei solchen mit postoperativer Komplikation dargestellt.

Es zeigt sich, dass alle Patientengruppen (keine Komplikation, IASC, AI) präoperativ eine durchschnittlich niedrige Endotoxin-Aktivität (*Low Level*) aufwiesen. Patienten ohne postoperative Komplikation zeigten im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum (Tag 1 bis Tag 9) niedrige Endotoxin-Aktivitäten. Im Vergleich dazu wurden bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation ab dem 4. postoperativen Tag eine durchschnittlich mittlere Endotoxin-Aktivität (*Middle Level*) nachgewiesen. Auch Patienten mit Anastomoseninsuffizienz zeigten an allen postoperativen Tagen, ausgenommen Tag 1, 3 und 7, mittlere Endotoxin-Aktivität. Hohe Endotoxin-Aktivität (*High Level*) wurden weder bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation noch bei Patienten mit Nahtinsuffizienz postoperativ beobachtet.

3.3.3.2. ROC-Analyse

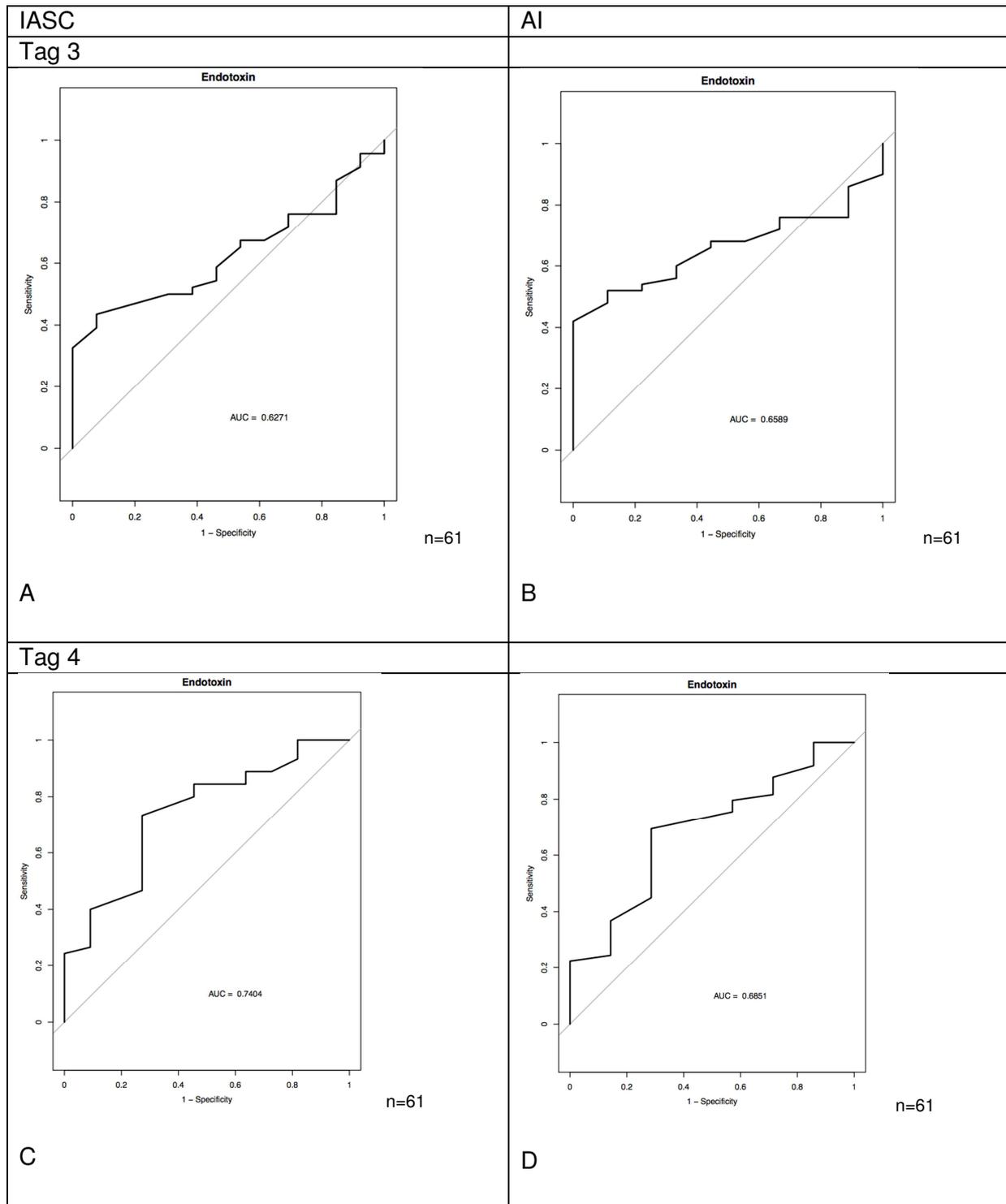


Abbildung 28 Diagnostische Sicherheit von Endotoxin (RLU) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.

Die Messung der Endotoxin-Aktivität (RLU) am 4. postoperativen Tag zeigte mit einer AUC von 0,7404 akzeptable diagnostische Güte für intraabdominale septische Komplikationen (Abbildung 28C). Die Sensitivität betrug 73,3%, 1 – Spezifität 27,3%, je bei einem Grenzwert von 0,385 (RLU). Der Youden-Index lag bei 0,4606 (Tabelle 14). Die Messung der

Endotoxin-Aktivität an Tag 3 hingegen wies, mit einer AUC von 0,6271, unzureichende Vorhersagekraft (Abbildung 28A) für die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen auf. Hier wurde eine Sensitivität von 43,5% bei einem *Cut-off* von 0,285 (RLU) berechnet (Tabelle 14).

Für die Diagnose von Anastomoseninsuffizienzen war die Messung der Endotoxin-Aktivität (RLU) sowohl am postoperativen Tag 3 als auch an Tag 4 mit einer AUC von 0,6589 und 0,6851 mit einer ungenügenden diagnostischen Sicherheit assoziiert (Abbildung 28B und D). Ein *Cut-off* von 0,285 (RLU) an Tag 3 und von 0,385 (RLU) an Tag 4 erzielte eine Sensitivität von 42% und 69,4%. Der Youden-Index an Tag 3 lag bei 0,42 und an Tag 4 bei 0,4082 (Tabelle 14).

	Area under the curve		Youden-Index		Cut-off		Sensitivität		1 – Spezifität	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,6271	0,7404	0,3579	0,4606	0,285	0,385	0,4348	0,7333	0,0769	0,2727
AI	0,6589	0,6851	0,42	0,4082	0,285	0,385	0,42	0,6939	0	0,2857

Tabelle 14: Diagnostische Sicherheit der Endotoxin-Aktivität (RLU) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4

3.3.4. Boxplotdarstellung der innovativen experimentellen Marker

Im folgenden ist die Häufigkeitsverteilung der jeweils am 4. postoperativen Tag erhobenen innovativen experimentellen Marker IL-6, HLA-DR und Endotoxin dargestellt. Bei Betrachtung des Markers IL-6 fällt auf, dass die mediane IL-6-Konzentration sowohl in Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation als auch in Patienten mit Anastomoseninsuffizienz deutlich höher war als in Patienten ohne Komplikation. Allerdings war in den beiden Komplikationsgruppen eine wesentlich breitere Streuung der Werte zu verzeichnen. Extreme Abweichungen der Werte waren nur in den beiden Patienten-Subgruppen mit Komplikationen festzustellen (Abbildung 29A und B).

In der graphischen Darstellung der mHLA-DR-Expression ist festzustellen, dass alle Patienten mit diagnostizierter Anastomoseninsuffizienz ausnahmslos niedrigere Werte als Patienten ohne Komplikation aufwiesen. Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation zeigten eine deutliche geringere mittlere mHLA-DR-Expression. Beide Komplikationsgruppen legten eine breitere Streuung der Werte dar (Abbildung 29C und D).

Sowohl Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation also auch Patienten mit Anastomoseninsuffizienz zeigten eine geringgradig höhere Endotoxinkonzentration (Abbildung 29D und F).

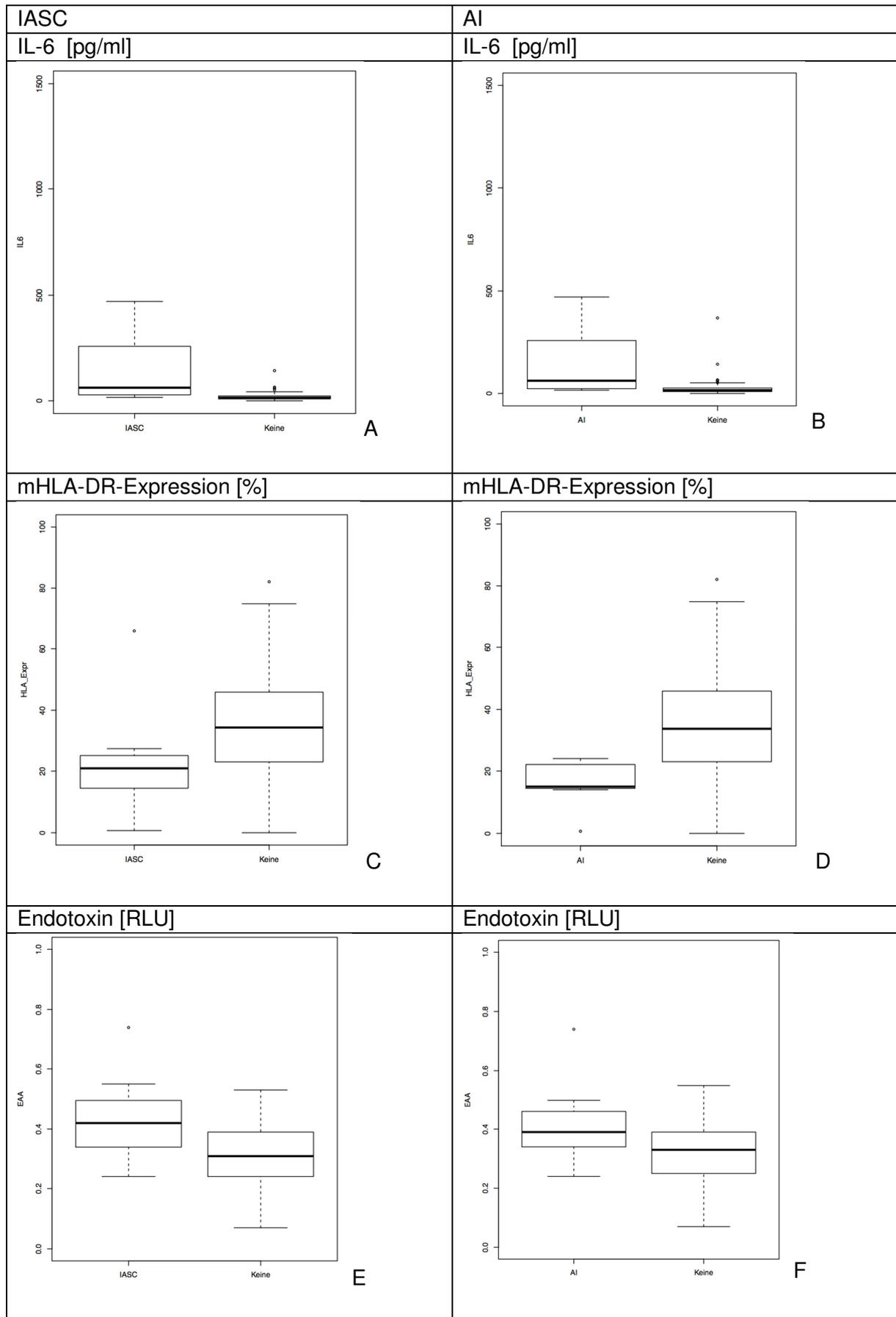


Abbildung 29 Boxplotsdarstellung der innovativen experimentellen Marker IL-6 (pg/ml), mHLA-DR-Expression(%) und Endotoxin (RLU) am 4. postoperativen Tag bei Patienten ohne und mit postoperativer Komplikation (IASC, AI).

3.3.5. Sensitivität, Spezifität, NPV und PPV der analysierten Marker

Die nachfolgende Tabelle (Tabelle 15) gibt eine Übersicht über die jeweilige Sensitivität, Spezifität sowie über den positiv prädiktiven Wert (PPV) und den negativ prädiktiven Wert (NPV) der analysierten Marker. Dargestellt sind die erhobenen Werte der Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) sowie der Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) am 3. und 4. Tag nach Operation. Hervorgehoben sind die Biomarker, die im Rahmen der ROC-Analyse die größte AUC, folglich, die größte diagnostische Sicherheit erzielten.

Unter den klinisch etablierten Markern zeigte CRP am 4. postoperativen Tag den höchsten AUC-Wert (0,8463) für die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen und damit herausragende diagnostische Güte. Ein Grenzwert von 9,4 mg/dl war mit einer Sensitivität von 76,2%, einer Spezifität von 90,1% und einem negativ prädiktiven Wert von 91,7% verbunden. Der positiv prädiktive Wert lag bei 74,1 %.

Unter den experimentellen Markern wies mHLA-DR am 3. Tag nach Operation mit einer AUC von 0,9267 die größte diagnostische Güte für das Aufzeigen von Anastomoseninsuffizienzen auf. Bei einem errechneten *Cut-off* von 43,4% erreichte die mHLA-DR-Expression eine Sensitivität von 76,6% und eine Spezifität von 100%. Der negativ prädiktive Wert lag bei 94,6% und der positiv prädiktive Wert bei 100%. Auch am 4. Tag nach Operation erzielte die mHLA-DR-Expression mit einer AUC von 0,8866 ausgezeichnete diagnostische Güte für die Detektion von Anastomoseninsuffizienzen. Ein *Cut-off* der mHLA-DR-Expression von 41,6% erzielte eine Sensitivität von 73,9%, eine Spezifität von 100%, einen negativ prädiktiven Wert von 94% und einen positiv prädiktiven Wert von 100%.

Mit einer AUC von 0,8808 zeigte ferner IL-6, gemessen am 4. postoperativen Tag, mit Blick auf intraabdominale septische Komplikationen die größte diagnostische Güte. Ein *Cut-off* der IL-6-Konzentration von 27,0 pg/ml erbrachte eine Sensitivität von 82,2% und eine Spezifität von 81,2%. IL-6 erreichte zudem einen negativ prädiktiven Wert von 94,4% und einen positiv prädiktiven Wert von 55,1%. Bezüglich der Inzidenz von Anastomoseninsuffizienzen war IL-6 am 4. Tag nach Operation mit einer AUC von 0,8163 und damit ausgezeichneter diagnostischer Sicherheit zu messen. Ein *Cut-off* der IL-6-Konzentration von 15,8 pg/ml war mit einer Sensitivität von 51%, einer Spezifität von 100%, einem negativ prädiktiven Wert von 92,2% und einem positiv prädiktiven Wert von 100% verbunden.

CRP [mg/dl]												
	Cut-off		Sensitivität		Spezifität		NPW		PPW		AUC	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	14,8	9,4	0,8376	0,7619	0,6154	0,9091	0,9170	0,9178	0,4268	0,7414	0,7638	0,8463
AI	16,55	9,4	0,8298	0,6957	0,5556	0,8571	0,9446	0,9363	0,2634	0,4824	0,7056	0,7236
Leukozyten [G/l]												
	Cut-off		Sensitivität		Spezifität		NPW		PPW		AUC	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	11,6	7,7	0,9149	0,6444	0,4615	0,6364	0,9524	0,8686	0,3151	0,3243	0,6596	0,6323
AI	9,25	7,7	0,7255	0,6531	0,7778	0,8571	0,9425	0,9346	0,361	0,4416	0,7342	0,7376
PCT [ng/ml]												
	Cut-off		Sensitivität		Spezifität		NPW		PPW		AUC	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,45	0,25	0,6522	0,6818	0,623	0,6364	0,8802	0,8807	0,3647	0,3368	0,6329	0,6777
AI	0,45	0,25	0,64	0,6667	0,7778	0,7143	0,9259	0,9253	0,3326	0,2876	0,6722	0,6964
IL-6 [pg/ml]												
	Cut-off		Sensitivität		Spezifität		NPW		PPW		AUC	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	84,45	27,0	0,9783	0,8222	0,5385	0,8182	0,9892	0,9444	0,3647	0,5505	0,791	0,8808
AI	93,55	15,8	0,96	0,5102	0,5556	1	0,9877	0,9219	0,2721	1	0,7467	0,8163
mHLA-DR-Expression [%]												
	Cut-off		Sensitivität		Spezifität		NPW		PPW		AUC	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	45,8	36,5	0,8605	0,6429	0,6923	0,9091	0,9355	0,8815	0,4889	0,7076	0,8005	0,7846
AI	43,4	41,6	0,766	0,7391	1	1	0,9461	0,9403	1	1	0,9267	0,8866
Endotoxin [RLU]												
	Cut-off		Sensitivität		Spezifität		NPW		PPW		AUC	
	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4	Tag 3	Tag 4
IASC	0,285	0,385	0,4348	0,7333	0,9231	0,7273	0,8578	0,9097	0,6049	0,4214	0,6271	0,7404
AI	0,285	0,385	0,42	0,6939	1	0,7143	0,9088	0,931	1	0,2959	0,6589	0,6851

Tabelle 15: Übersicht über die *area under the curve* (AUC), Sensitivität, Spezifität, den negativ prädiktiven Wert und den positiv prädiktiven Wert mit dem jeweilig erhobenen *Cut-off* der untersuchten Biomarker an Tag 3 und Tag 4 nach Operation

3.3.5.1. Vergleich der diagnostischen Güte der klinisch etablierten Marker

Tabelle 16 vergleicht die prädiktive Wertigkeit der Leukozytenzahl (G/L), CRP (mg/dl) und PCT (ng/ml). Dargestellt ist die AUC der einzelnen Serum-Marker jeweils an Tag 3 und Tag 4 hinsichtlich der Prädiktion einer intraabdominalen septischen Komplikation bzw. einer Anastomoseninsuffizienz.

	AUC für IASC	AUC für AI
Tag 3		
CRP [mg/dl]	0,7638	0,7056
PCT [ng/ml]	0,6329	0,6722
Leukozyten [G/l]	0,6596	0,7342
Tag 4		
CRP [mg/dl]	0,8463	0,7236
PCT [ng/ml]	0,6777	0,6964
Leukozyten [G/l]	0,6323	0,7376

Tabelle 16: Vergleich der diagnostischen Güte des CRP (mg/dl), PCT (ng/ml) und der Leukozytenzahl (G/l) an den postoperativen Tagen 3 und 4. AUC: *area under the curve*, IASC: intraabdominale septische Komplikation, AI: Anastomoseninsuffizienz

3.3.5.2. Vergleich der diagnostischen Güte des CRP, IL-6 und der mHLA-DR-Expression

In der unten aufgeführten Tabelle (Tabelle 17) wird die diagnostische Sicherheit des CRP (mg/dl), IL-6 (pg/ml) und der mHLA-DR-Expression verglichen. Angegeben ist die AUC der Biomarker jeweils am 3. und 4. postoperativen Tag im Hinblick auf die Vorhersage einer intraabdominalen septischen Komplikation bzw. einer Anastomoseninsuffizienz.

	IASC			AI		
	AUC	Sensitivität	<i>Cut-off</i>	AUC	Sensitivität	<i>Cut-off</i>
Tag 3						
CRP [mg/dl]	0,7638	0,8376	14,8	0,7056	0,8298	16,55
IL-6 [pg/ml]	0,5167	0,9783	84,45	0,7467	0,96	93,55
mHLA-DR [%]	0,8005	0,8605	45,8	0,9267	0,766	43,4
Tag 4						
CRP [mg/dl]	0,8463	0,7619	9,4	0,7236	0,7619	9,4
IL-6 [pg/ml]	0,8808	0,8222	27	0,8163	0,5102	15,8
mHLA-DR [%]	0,7846	0,6429	36,5	0,8866	0,7391	41,6

Tabelle 17: Vergleich der diagnostischen Güte des CRP (mg/dl), IL-6 (pg/ml) und der mHLA-DR-Expression (%) an den postoperativen Tagen 3 und 4. AUC: *area under the curve*, IASC: intraabdominale septische Komplikation, AI: Anastomoseninsuffizienz

4. DISKUSSION

Intraabdominale septische Komplikationen (IASC) nach kolorektalen Eingriffen treten je nach Patientenkollektiv in bis zu 23% der Fälle auf und sind mit einer kurzfristigen Mortalität mit Raten bis über 30% [10, 45] behaftet. Sie haben desaströsen Einfluss auf das kurzfristige und langfristige Operationsergebnis. So resultieren sie nicht nur in erhöhter Mortalität, sondern auch verkürztem Langzeitüberleben und höheren Rezurrenzzraten. Nicht zuletzt sind sie auch mit verlängertem Krankenhausaufenthalt und höhere Kosten für das Gesundheitswesen vergesellschaftet [13-16]. Aufgrund der Häufigkeit sowie der schwerwiegenden Konsequenzen, die mit dem Auftreten intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen verbunden sind, ist eine frühzeitige Diagnose und infolgedessen eine konsequente früh- bzw. rechtzeitige adäquate Therapie notwendig, um mögliche Folgen zu minimieren. Falls frühzeitig diagnostiziert, kann eine adäquate konservative, interventionelle oder operative Therapie initiiert werden und die komplikationsbedingte Morbidität und Mortalität gesenkt werden [32, 38].

In dieser Studie zeigte sich eine Inzidenz postoperativer intraabdominaler septischer Komplikationen von 21%, wovon wiederum der Großteil (69%) an einer Anastomoseninsuffizienz litten. Die Mortalität in der vorliegenden Studie lag bei 0 %.

Die besonders frühzeitige Identifizierung von Patienten, die eine IASC oder AI erleiden, ist zweifelsfrei von enormem klinischen und sozioökonomischen Interesse. Insbesondere in Zeiten der sogenannten „Fast-Track-Chirurgie“, welche eine zeitnahe Entlassung des Patienten aus der klinisch stationären Überwachung zum Ziel hat, ist eine frühzeitige Diagnose von postoperativen intraabdominalen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen nach kolorektalem Eingriff wichtig, um verschleppte und signifikant verspätet diagnostizierte Komplikationen nach Entlassung zu vermeiden. Karliczek et al. zeigten in ihrer Studie, dass klinische Merkmale wie Fieber, Bauchschmerzen, Tachykardie, Hypertension oder Dyspnoe als unverlässliche Prädiktoren derartiger Komplikationen anzusehen sind [99]. Insbesondere aufgrund der häufig asymptomatischen klinischen Präsentation in bis zu 50% der betroffenen Patienten besitzt die isoliert klinische Beurteilung des Patienten nur eine unzureichende diagnostische Präzision und weist eine mangelhafte Vorhersagegenauigkeit in der Detektion postoperativer septischer Komplikationen auf [99]. Radiologische Bildgebung ist angesichts hoher Kosten und Strahlenbelastung als generelles diagnostisches Instrument ebenso ungeeignet als postoperativer Standard [100]. Laborchemische Biomarker nehmen daher eine Schlüsselrolle in der frühzeitigen Diagnose von postoperativen, intraabdominalen septischen

Komplikationen ein, da sie über die routine-mäßige periphere Blutentnahme postoperativ einfach gemessen werden können [101].

In der vorliegenden Arbeit wurden der perioperative Verlauf und die diagnostische Wertigkeit klinisch etablierter sowie experimenteller Sepsis-Marker nach kolorektalen Eingriffen untersucht und verglichen. Im Verlauf der letzten Jahre haben sich Biomarker wie die Leukozytenzahl, C-reaktives Protein und Procalcitonin im klinischen Alltag als bewährte Entzündungsmarker etabliert und eine feste Position in der postoperativen laborchemischen Routinediagnostik eingenommen. Insbesondere CRP erwies sich im Rahmen von Studien als verlässlicher und akkurater Marker und zeigte sich auch nach kolorektalen Eingriffen zuverlässig [52]. Procalcitonin und die Leukozytenzahl wurden ebenso hinsichtlich ihrer diagnostischen und prognostischen Eigenschaften in der kolorektalen Chirurgie in Studien erprobt [102-105]. Die gewonnenen Erkenntnisse sind jedoch insgesamt als kontrovers zu bewerten und werden im weiteren kritisch diskutiert sowie mit den in der vorliegenden Studie gewonnenen Ergebnissen verglichen. Neben klinisch etablierten Entzündungsmarkern wurden in vorangegangenen Studien auch zahlreiche experimentelle Marker bezüglich ihrer diagnostischen Güte im Rahmen der Sepsis untersucht [84, 106-109]. Hierunter befinden sich auch die in der vorliegenden Studie untersuchten Marker IL-6, die mHLA-DR-Expression und das Endotoxin. Die in der Studie für diese Marker erzielten Ergebnisse werden im Folgenden ebenfalls kritisch mit den Ergebnissen aus der Literatur diskutiert werden.

4.1. Wertigkeit der klinisch etablierten Entzündungsmarker

Insbesondere die Leukozytenzahl, CRP und PCT waren in den letzten Jahren im Fokus wissenschaftlicher Arbeiten und ihr Stellenwert als diagnostischer Serum-Marker in der frühen postoperativen Phase nach kolorektalen Eingriffen wurde mehrfach untersucht.

Die Bestimmung der Leukozytenzahl bzw. der Nachweis einer Leukozytose zählt zu den häufigsten angewandten Indikatoren einer Entzündung bzw. einer Infektion. Es hat sich aber gezeigt, dass eine postoperative Leukozytose auch ohne Infektionsfokus vorliegen kann. Umgekehrt, kann eine postoperative Infektion auch ohne Leukozytose einhergehen [110]. Dennoch wird beim postoperativen Monitoring die Bestimmung der Leukozytenzahl im klinischen Alltag regelhaft durchgeführt und hat sich als postoperative Routinediagnostik etabliert. Jedoch ist die Datenlage darüber, wann eine Bestimmung des Biomarkers idealerweise erfolgen sollte, schwach [51]. Sua et al. veröffentlichten eine Metaanalyse, welche sämtliche seit 1996 durchgeführten Studien zur Evaluation der prädiktiven Fähigkeit von Leukozyten in der kolorektalen Chirurgie im Kontext der Anastomoseninsuffizienz einschloss [51]. Den 8 Arbeiten war gleichermaßen zu entnehmen, dass ein Maximum der Leukozytenkonzentration am Tag der Nahtinsuffizienz zu verzeichnen ist. Dies konnte in den

aktuell vorliegenden Daten nicht bestätigt werden (Abbildung 10). Hier zeigte sich der Spitzenwert der Leukozytenzahl am zweiten Tag nach aufgetretener Leckage. In der von uns durchgeführten Studie wurde zudem die diagnostische Sicherheit der Leukozytenzahl am 3. und 4. Tag nach Operation bezüglich des Auftretens von intraabdominalen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz nach kolorektaler Chirurgie erhoben. Tabelle 15 zeigt, dass die prädiktive Fähigkeit der Leukozyten sowohl an Tag 3 als auch an Tag 4 der CRP-Messung hinsichtlich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen deutlich unterlegen war und nur unzufriedenstellende Ergebnisse zeigte. Zum gleichen Ergebnis kamen auch Ortega-Deballon et al. [103]. Auch hier wurde bestätigt, dass die diagnostische Wertigkeit der Leukozytenzahl hinsichtlich der Prädiktion von infektiösen Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen unzufriedenstellend und der diagnostischen Wertigkeit von CRP unterlegen ist. Warschkow et al. bekräftigten dieses Ergebnis und stellten fest, dass die Vorhersagekraft der Leukozytenzahl lediglich dem Zufall entspricht [111].

Bei Betrachtung der perioperativen Dynamik der durchschnittlichen Leukozytenzahl (G/L) bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation (Abbildung 8) und bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (Abbildung 9) fällt auf, dass in der Gruppe der intraabdominalen septischen Komplikationen an Tag 4, 6 und 7 nach Operation Normwerte beobachtet wurden. Im Gegensatz dazu, zeigten Patienten mit vorliegender Anastomoseninsuffizienz an keinem Tag normwertige Leukozytenzahlen im postoperativen Verlauf. Daraus lässt sich folgern, dass die prädiktive Wertigkeit der Leukozytenzahl hinsichtlich der Detektion von Nahtinsuffizienzen mit einer AUC von 0,7342 (Tag 3) bzw. von 0,7376 (Tag 4) zwar unzureichend ist, sich jedoch im perioperativen Verlauf eindeutige Unterschiede in der durchschnittlichen Konzentration des Serum-Markers zeigen. In Patienten mit vorliegender Anastomoseninsuffizienz liesen sich, im Vergleich zu Patienten ohne Komplikation, deutlich erhöhte Leukozytenkonzentrationen im postoperativen Verlauf beobachten.

CRP ist ein Akute-Phase-Protein, welches reaktiv durch Stimulation proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α und IL-6 in der Leber synthetisiert wird. Es spielt als Aktivator des Komplementweges eine tragende Rolle im angeborenen Immunsystem und hat supportive Aktivität in der Phagozytose von beschädigten und fremden Zellen. Aufgrund seiner kurzen und stabilen Halbwertszeit von etwa 19 Stunden ist CRP ein verlässlicher, aber auch unspezifischer Marker, in der Detektion von akuten Entzündungsvorgängen im Körper [112].

CRP wurde bereits mehrfach in Studien auf seine prädiktive Eigenschaft in der Detektion von postoperativen infektiösen Komplikationen nach chirurgischer Intervention untersucht [103, 111, 113-115]. Warschkow et al. prüften in einer retrospektiv durchgeführten Studie, welche

insgesamt 1187 Patienten einschloss, die prädiktive Wertigkeit von CRP spezifisch im Hinblick auf die Entwicklung von septischen Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen [116]. Hierbei zeigte CRP am 4. postoperativen Tag die beste diagnostische Güte. Bestätigt wurden diese Ergebnisse durch eine von Singh et al. durchgeführte Metaanalyse, die insgesamt 7 Studien zur prädiktiven Wertigkeit von CRP in der kolorektalen Chirurgie einschloss [112]. Darin wurde gleichermaßen beobachtet, dass der prädiktive Nutzen von CRP am 3. bis 5. postoperativen Tag am Größten ist. In einer weiteren Studie, welche 50 elektive Kolonresektionen untersuchte wurde die beste diagnostische Güte des Serum-Markers am 5. Tag nach Operation beobachtet [102]. Allerdings wurde in dieser Studie keine Messung der CRP-Konzentration am 4. postoperativen Tag durchgeführt. In der bisher größten multizentrischen, prospektiven Studie, der IMACORS- Studie, wurden 510 kolorektale Eingriffe mit primärer Anastomosenanlage untersucht [52]. Auch dieser Literatur ist zu entnehmen, dass die prädiktive Wertigkeit von CRP am 4. Tag nach Eingriff sein Maximum erreicht.

Im Einklang mit der vorhandenen Literatur wurde in der durchgeführten Studie die diagnostische Sicherheit von CRP (sowie der anderen Entzündungsmarker) mit Fokus auf den 3. und 4. Tag nach durchgeführtem kolorektalen Eingriff evaluiert.

Tabelle 18 vergleicht die AUC-Werte des CRP zur Vorhersage intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz als wichtigen Parameter der diagnostischen Güte an Tag 3 und Tag 4 nach Operation mit den Ergebnissen ausgewählter publizierter Studien [52, 103, 111, 115]. Hierbei wurden die in der Literatur größten Patientenserien sowie die der vorliegenden Studie konzeptionell ähnlichsten der letzten zwölf Jahre ausgewählt. Es zeigt sich, dass CRP bei allen aufgeführten Studien seine größte diagnostische Güte am 4. Tag nach Operation aufzuweisen scheint. Dies wurde durch die vorliegende Studie bestätigt, wobei die AUC im Vergleich zu Tag drei (0,7638) bei 0,8463 lag.

Folgend sollen die erhobenen Ergebnisse unserer Studie mit den Ergebnissen konzeptionell ähnlicher Studien verglichen und diskutiert werden.

In einer von Welsch et al. durchgeführten Arbeit erzielte CRP am 4. postoperativen Tag eine AUC von 0,88 hinsichtlich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen [115]. In Übereinstimmung mit unserer Studie wies CRP, gemessen am 4. postoperativen Tag, ausgezeichnete diagnostische Sicherheit (AUC von 0,85) im Bezug auf die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen auf. Bei einem Grenzwert von 14 mg/dl wurde eine Sensitivität von 54,3% und eine Spezifität von 92,3% errechnet. In den aktuell vorliegenden Daten erreichte ein *Cut-off* von 9,4 mg/dl eine Sensitivität von 76,2% und eine

Spezifität von 90,9%. Die im Vergleich höhere Sensitivität, aber geringere Spezifität kann durch den statistisch niedriger errechneten Grenzwert erklärt werden. Die stärkere Diskriminationskraft kann mutmaßlich durch die größere Patientenzahl in der von Welsch et al. [115] verfassten Studie (n= 96) im Vergleich zu dieser (n=61) erklärt werden. Auffällig zeigt sich die unterschiedliche Rate an Anastomoseninsuffizienzen in den beiden Studien. Während Welsch et al. 96 Patienten einschloss und eine Rate an Anastomoseninsuffizienzen von 5,5% verzeichnete, war die Rate an Nahtinsuffizienzen in der vorliegenden Arbeit mit 14,8% bei 61 eingeschlossenen Patienten deutlich höher. Diese Diskrepanz kann vermutlich durch die unterschiedlichen Patientenkohorten erklärt werden. In unserer Studie wurde ein heterogenes Patientenkollektiv untersucht, welches Patienten mit Karzinom sowie mit akut und chronisch entzündlicher Darmerkrankung einschloss. Dahingegen waren Patienten mit entzündlicher Darmerkrankung (akut oder chronisch) Ausschlusskriterium in der von Welsch et al. durchgeführten Arbeit. Studien haben gezeigt, dass Kolektomien aufgrund von Divertikulitis sowie das Vorliegen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Anastomoseninsuffizienzen einhergehen [42, 117].

2009 publizierten Ortega-Deballon et al. eine Studie, welche ein Patientenkollektiv einschloss, das dem der vorliegenden Studie sehr ähnlich war [103]. 133 Patienten, die sich einem kolorektalen Eingriff mit Anastomosenanlage unterzogen, wurden prospektiv eingeschlossen. Primäre Endpunkte stellten das Auftreten postoperativer septischer Komplikationen sowie eine Anastomoseninsuffizienz dar. CRP, gemessen am 4. postoperativen Tag, erreichte eine AUC von 0,804 hinsichtlich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen und bezüglich des Auftretens einer Anastomoseninsuffizienz eine AUC von 0,716. Tabelle 18 zeigt, dass diese Ergebnisse mit den Ergebnissen unserer Studie vergleichbar waren. Sowohl in unserer Studie als auch in der von Ortega-Deballon et al. durchgeführten Studie demonstrierte CRP ausgezeichnete Diskriminationskraft beim Aufzeigen intraabdominaler septischer Komplikationen und zufriedenstellende diagnostische Güte in der Detektion von Anastomoseninsuffizienzen. Unterschiedlich stellt sich die Mortalität dar. In der von Ortega-Deballon et al. veröffentlichten Studie lag die Mortalität bei 4,5% (n=6). Drei der verstorbenen Patienten litten dabei an einer Anastomoseninsuffizienz. In unserer Studie verstarb kein Patient.

Kürzlich wurde von Facy et al. die größte multizentrisch-prospektive Studie publiziert, die mit dem Studiendesign der vorliegenden Studie maßgeblich übereinstimmt [52]. 510 Patienten, die sich einem kolorektalen Eingriff mit Anastomosenanlage unterzogen, wurden in die Studie eingeschlossen. Primäres Outcome war das Auftreten von intraabdominalen septischen Komplikationen. Die Messung von CRP am 4. postoperativen Tag zeigte eine

AUC von 0,775 und damit zufriedenstellende diagnostische Sicherheit. Ein *Cut-off* der CRP-Konzentration von 9,4 mg/dl war mit einer Sensitivität von 81% und einer Spezifität von 64% assoziiert. Der negativ prädiktive Wert lag bei 96%. Die Sensitivität und Spezifität in unserer Studie lag bei identischem Schwellenwert bei 76,2% bzw. 90,9%. Der negativ prädiktive Wert erreichte 91,8%. CRP gemessen am 4. Tag nach Operation erreichte eine AUC von 0,8463 und somit ausgezeichnete diagnostische Sicherheit. Die im Vergleich zu unserer Studie höhere Sensitivität und der größere negativ prädiktive Wert ist höchstwahrscheinlich durch die bedeutend größere Patientenzahl sowie durch die geringere Rate an intraabdominalen septischen Komplikationen (11,8% vs. 14%) zu erklären. Grund für die geringere Komplikationsrate bei Facy et al. ist möglicherweise der Ausschluss von Notfalleingriffen. Aktueller Evidenz besagt, dass Notfalleingriffe mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz einhergehen [38, 118]. Ein weiterer Grund für die geringere Komplikationsrate stellt eventuell die Definition des primären Endpunktes dar. Während bei Facy et al. lediglich Anastomoseninsuffizienz und abdominale Organinfektionen zu postoperativen intraabdominalen Infektionen gezählt wurden, umfasste die Definition in der vorliegenden Arbeit zusätzlich intraabdominale Abszesse.

2012 wurde von Warschkow et al. eine Arbeit publiziert, die 1187 Patienten mit histologisch gesichertem kolorektalen Karzinom und folgender offener Resektion einschloss [111]. Auch in dieser Literatur zeigte sich die größte diagnostische Güte von CRP am 4. Tag nach Operation. Weiter wurde nachgewiesen, dass CRP mit einer AUC von 0,77 zufriedenstellende diagnostische Wertigkeit im Bezug auf das Auftreten von Anastomoseninsuffizienzen besitzt. Diese Ergebnisse müssen jedoch kritisch eingeordnet werden. Obligates Einschlusskriterium war das Vorliegen eines kolorektalen Karzinoms. Die Behandlung eines Karzinoms geht im Großteil der Fälle mit neoadjuvanter Chemo- und/oder Strahlentherapie einher. Eine erfolgte präoperative Strahlentherapie stellt einen unabhängigen Riskofaktor für das Auftreten postoperativer Anastomoseninsuffizienzen dar [43, 46]. 20% der eingeschlossenen Patienten in unserer Studie erhielten eine präoperative Strahlentherapie. Der Anteil der Patienten, welche präoperativ eine Strahlentherapie erhielten ist den von Warschkow et al. veröffentlichten Daten nicht zu entnehmen. Da jedoch das Vorliegen eines histologisch gesicherten kolorektalen Karzinoms obligates Einschlusskriterium darstellte, kann mutmaßlich von einem höheren Anteil ausgegangen werden.

Zusammengefasst zeigen zahlreiche Studien und auch die vorliegende, dass CRP einen verlässlichen und akkuraten Marker in der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz darstellt. Die Messung der CRP-Konzentration am 4. Tag nach Operation besitzt insbesondere zur Identifizierung von Patienten mit

intraabdominalen septischen Komplikationen ausgezeichnete diagnostische Sicherheit. In Bezug auf Anastomoseninsuffizienzen weist CRP zufriedenstellende Güte auf. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass CRP in der postoperativen laborchemischen Routinediagnostik am 4. Tag nach Operation bestimmt werden sollte.

		AUC		Sensitivität		Spezifität	
		IASC	AI	IASC	AI	IASC	AI
unsere Studie (2017)	Tag 3	0,7638	0,7638	0,8376	0,8298	0,6154	0,5556
	Tag 4	0,8463	0,7236	0,7619	0,6957	0,9091	0,8571
Facy et al. (2016) [52]	Tag 3	0,684	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	Tag 4	0,775	n.a.	0,81	n.a.	0,64	n.a.
Welsch et al. (2007) [115]	Tag 3	0,88	n.a.	0,800	n.a.	0,810	n.a.
	Tag 4	0,88	n.a.	0,543	n.a.	0,923	n.a.
Warschkow et al. (2012) [111]	Tag 3	0,69	0,66	0,54	0,58	0,78	0,75
	Tag 4	0,76	0,77	0,66	0,75	0,77	0,71
Ortega-Deballon et al. (2010) [103]	Tag 3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	Tag 4	0,804	0,716	n.a.	0,818	n.a.	0,6444

Tabelle 18: Vergleich der *area under the curve* sowie der Sensitivität von CRP (mg/dl) an den postoperativen Tagen 3 und 4 für die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen (IASC) und Anastomoseninsuffizienzen (AI) in der vorliegenden sowie in ausgewählten publizierten Studien.

Ferner wurde in unserer Studie die perioperative Dynamik der durchschnittlichen CRP-Konzentration am Tag vor der Operation sowie an den ersten 9 Tagen nach Operation untersucht (Abbildung 12 und 13). Patienten mit komplikationslosem Verlauf zeigten ein Maximum des Serum-CRP von mehr als 10 mg/dl an Tag 2 mit folgend raschem Abfall der CRP-Konzentration. Im Vergleich dazu wiesen sowohl Patienten mit postoperativer intraabdominaler septischer Komplikation als auch Patienten mit Anastomoseninsuffizienz neben einem initial ausgeprägteren CRP-Anstieg mit Werten von über 15 mg/dl am zweiten postoperativen Tag einen fehlenden CRP-Abfall im postoperativen Verlauf auf. Bei Patienten beider Komplikationsgruppen waren innerhalb der ersten 8. postoperativen Tage persistierend erhöhte CRP-Konzentrationen von mehr als 15 mg/dl festzustellen. Die in unserer Studie beobachtete perioperative Dynamik der CRP-Konzentration zeigte sich übereinstimmend zu vorangegangenen Studien [52, 115, 119]. Welsch et al. legten ebenfalls dar, dass eine postoperativ persistierend erhöhte CRP-Konzentration als Indikator einer postoperativen infektiösen Komplikation anzusehen ist [115]. In den 2007 veröffentlichten Daten wurde gezeigt, dass Patienten mit postoperativer infektiöser Komplikation nach kolorektalem Eingriff anhaltend erhöhte CRP-Konzentrationen von mehr als 10 mg/dl aufwiesen. Außerdem wurde demonstriert, dass ein maximales Konzentrationsniveau des Serum-CRP an Tag 2 mit anschließendem raschem Abfall einen unkomplizierten postoperativen Verlauf anzuzeigen in der Lage ist. Diese Ergebnisse wurden durch die aktuell vorliegenden Daten bestätigt. Das Auftreten eines kurzfristigen CRP-Maximums am

2. postoperativen Tag bei Patienten mit komplikationslosem postoperativen Verlauf kann durch das Operationstrauma erklärt werden. Yamamoto et al. legten 2004 dar, dass unterschiedliche intraoperative Techniken mit einem Maximum der CRP-Konzentration und anschließendem konsekutivem Abfall am 2. Tag nach Operation einhergehen [120]. Dies bestätigt, dass allein das Operationstrauma bzw. der durchgeführte kolorektale Eingriff selbst zu einer signifikanten Erhöhung der Serum-CRP-Konzentration führt.

Persistierend erhöhte CRP-Werte bei Patienten mit postoperativer Komplikation sind mutmaßlich damit zu erklären, dass bereits unmittelbar nach der Operation insbesondere aber vor der klinischen Manifestation einer vorliegenden septischen Komplikation ein subklinischer Entzündungsprozess mit Aktivierung der CRP-Produktion vorliegt. Die Serum-CRP-Konzentration ist weitestgehend unabhängig von Organdysfunktionen und entspricht daher direkt proportional der Syntheserate [59]. Da die Leber als einziges Organ an der CRP-Produktion beteiligt ist, kann die Serum-CRP-Konzentration lediglich durch das Vorliegen einer Leberinsuffizienz verfälscht werden. Kein Patient unserer Studie litt an einer fortgeschrittenen Leberinsuffizienz. Die Syntheserate von CRP spiegelt die Intensität der vorliegenden Entzündung wieder [59]. Infolgedessen muss aufgrund der postoperativ persistierend erhöhten CRP-Konzentration bei Patienten mit Komplikation davon ausgegangen werden, dass das Vorliegen einer intraabdominalen septischen Komplikation einen frühzeitigen Entzündungsprozess initiiert und mit frühzeitig gesteigerter CRP-Produktion einhergeht. Zum heutigen Zeitpunkt sind 18 Studien bekannt, in denen CRP hinsichtlich seiner prognostischen Eigenschaften in der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen und Anstomoseninsuffizienz untersucht wurde [51]. In sämtlichen Studien war das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz mit einer signifikant erhöhten CRP-Konzentration vor Diagnosestellung verbunden [51]. Dies unterstreicht die Hypothese, dass bei Auftreten einer postoperativen Komplikation die Aktivierung der CRP-Produktion und infolgedessen ein subklinischer Entzündungsprozess bereits vor dem Auftreten klinischer Symptome besteht. Eine persistierend erhöhte CRP-Konzentration nach kolorektalem Eingriff muss daher als Warnhinweis für das Vorliegen einer postoperativen infektiösen Komplikation angesehen werden.

Abbildung 14 zeigt die Dynamik der durchschnittlichen CRP-Konzentration in Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation 5 Tage vor der Diagnosestellung, am Tag der Diagnosestellung und 5 Tage danach. In unserer Studie wurde gezeigt, dass Patienten mit aufgetretener Komplikation am Tag nach der Diagnose ein maximales Konzentrationsniveau der Serum-CRP-Konzentration von mehr als 20 mg/dl erreichen und anschließend ab dem 3. Tag nach Diagnosestellung ein rapider Abfall folgt. Die Serum CRP-Konzentration ist somit ein hilfreicher Biomarker, um den Behandlungserfolg einer Therapie bei Entzündung oder

Infektion zu überwachen und zu überprüfen. Bei Wegfall des proinflammatorischen Stimulus kommt es zu rückläufiger CRP-Ausschüttung und die Serum-CRP-Konzentration fällt folglich schnell ab [59]. Das Ziel der Therapie bei Vorliegen einer septischen Komplikation besteht stets in der konservativen, interventionellen und oder chirurgischen Sanierung des Sepsis-Fokus. So lässt sich der rasche Abfall der CRP-Konzentration nach Diagnosestellung dadurch erklären, dass als Reaktion auf die vorliegenden Komplikation der Patient einer zielgerichteten Therapie zugeführt und in weiterer Folge der Entzündungsherd ausgeschaltet wurde. Die postoperative Routinemessung der CRP-Konzentration eignet sich somit nicht nur zur Identifikation von Patienten mit vorliegender postoperativer septischer Komplikation, sondern dient auch dem Monitoring eines Therapieerfolges.

Das 116 Aminosäuren-Polypeptid Procalcitonin ist ein Entzündungsmarker, der vorrangig in der Diagnose und Therapiekontrolle einer Sepsis bakteriellen Ursprungs herangezogen wird [66]. Procalcitonin scheint im Vergleich zu anderen Biomarkern vorteilhaft, da es eine lange Halbwertszeit, ein breites biologisches Spektrum und eine kurze Induktionszeit nach bakteriellem Stimulus besitzt [70]. Während CRP etwa 6 Stunden nach Reiz freigesetzt wird und seinen Spitzenwert nach durchschnittlich 48 Stunden erreicht, wird PCT bereits 3 bis 4 Stunden nach bakteriellem Stimulus freigesetzt und erreicht sein maximales Konzentrationsniveau nach 6 bis 8 Stunden [59, 66]. Aufgrund dieser Eigenschaften stellt PCT einen Biomarker mit großem Potential dar und wurde mehrfach in Studien auf seine prognostische Eignung getestet.

2006 wurde von Chromik et al. eine prospektive Studie durchgeführt, in der 20 Patienten nach kolorektalem Eingriff und einer PCT-Konzentration von mehr als 15 mg/dl in zwei Gruppen randomisiert wurden [121]. Eine Gruppe erhielt postoperativ eine prophylaktische antibiotische Therapie, die andere Gruppe (Kontrollgruppe) wurde ohne postoperative Antibiotikatherapie behandelt. Die Patientengruppe mit verabreichter antibiotischer Therapie zeigte weniger Infektionen. Aus diesem Ergebnis wurde geschlossen, dass PCT ein brauchbarer Marker in der frühzeitigen Detektion von postoperativen infektiösen Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen ist. Die geringe Patientenzahl und die vorsätzliche Wahl der Patienten ($PCT > 15 \text{ ng/ml}$) beschränkte jedoch die Aussagekraft der durchgeführten Studie. Nichtsdestotrotz wurde die potentielle Fähigkeit von PCT als Prädiktor infektiöser Komplikationen erkannt. Im Zuge folgender Untersuchungen wurde schließlich nachgewiesen, dass PCT auch nach kardiochirurgischen, thoraxchirurgischen und orthopädischen Eingriffen prädiktiven Wert in der Detektion infektiöser Komplikationen zu haben scheint und in dieser klinischen Situation unter anderem auch CRP überlegen ist [122-124]. Ermutigt durch diese vielversprechenden Ergebnisse wurden schließlich Studien durchgeführt, die die diagnostische Wertigkeit des PCT in der kolorektalen Chirurgie

untersuchten und mit dem klinisch etablierten Marker CRP verglichen [52, 65, 105, 119, 125].

In unserer Studie war die diagnostische Güte des PCT unzufriedenstellend mit einer AUC von 0,6329 bzw. 0,6722 und 0,6777 bzw. 0,6964 jeweils am 3. und 4. postoperativen Tag. Tabelle 20 legt dar, dass PCT an beiden analysierten postoperativen Tagen sowohl im Hinblick auf die Detektion von Anastomoseninsuffizienzen als auch im Hinblick auf die Detektion intraabdominaler septischer Komplikationen enttäuschende diagnostische Sicherheit aufwies und CRP deutlich unterlegen war. Ähnliche Ergebnisse erhielten auch Lagoutte et al. [119]. In dieser prospektiven Studie wurden 100 Patienten eingeschlossen, die sich einem elektiven kolorektalen Eingriff unterzogen. Mit einer Mortalität von 2% und einer Rate an Anastomoseninsuffizienzen von 13% ist die Studie sowohl mit vorliegender Literatur als auch mit unserer Studie vergleichbar [43, 126]. Es wurde übereinstimmend mit unseren Ergebnissen gezeigt, dass PCT keine überlegene Diskriminationsfähigkeit gegenüber CRP in der Detektion von Anastomoseninsuffizienz in der kolorektalen Chirurgie besitzt [119].

Im Gegensatz zu unserer Studie zeigten sich jedoch die Ergebnisse einer 2013 von Garcia-Granero et al. veröffentlichten Arbeit. Es wurde beobachtet, dass PCT dem CRP in der Vorhersage von Anastomoseninsuffizienzen nach kolorektalem Eingriff überlegen ist [65]. Das gegensätzliche Ergebnis ist möglicherweise durch die in der Studie im Besonderen selektierte Patientenkohorte erklärbar. Nahtinsuffizienzen wurden in „Major“ und „Minor“ klassifiziert. Eine „Major“-Anastomoseninsuffizienz lag bei Notwendigkeit einer operativen Revision vor. Nur in dieser Subgruppenanalyse erlangte PCT ausgezeichnete diagnostische Güte und war CRP überlegen. Die Auswertung der „Minor“-Anastomoseninsuffizienzen bzw. die Kombination beider Nahtinsuffizienzen erbrachte unzufriedenstellende Diskriminationsfähigkeit für PCT. Eine Unterklassifikation mit spezifischer Auswertung der revisionsbedürftigen Nahtinsuffizienzen wurde in unserer Studie nicht durchgeführt.

		PCT [ng/ml]		CRP [mg/dl]	
		AUC IASC	AUC AI	AUC IASC	AUC AI
unsere Studie (2017)	Tag 3	0,6329	0,6722	0,7638	0,7056
	Tag 4	0,6777	0,6964	0,8463	0,7236
Lagoutte et al. (2012) [119]	Tag 3	n.a.	0,674	n.a.	0,801
	Tag 4	n.a.	0,750	n.a.	0,869
Garcia-Granero et al. (2013) [65]	Tag 3	n.a.	0,735	n.a.	0,711
	Tag 4	n.a.	0,725	n.a.	0,694

Tabelle 19: Vergleich der diagnostischen Güte von PCT (ng/ml) und CRP (mg/dl) an den postoperativen Tagen 3 und 4 hinsichtlich der Detektion intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) und Anastomoseninsuffizienz (AI) ausgewählter Studien

Die perioperative Dynamik der durchschnittlichen PCT-Konzentration präsentierte sich in unserer Studie identisch zur der vorangegangener Studien [65, 119]. Die durchschnittliche PCT-Konzentration stieg am 1. Tag nach Operation stark ausgeprägt an, erreichte einen Spitzenwert an Tag 2 und normalisierte sich bei Patienten ohne Komplikation weitestgehend am 4. bis 5. Tag. Dahingegen zeigten Patienten mit Anastomoseninsuffizienz einen fehlenden bzw. verzögerten PCT-Abfall im postoperativen Verlauf (Abbildung 16 und 17).

Tabelle 20 vergleicht die von uns erhobenen Ergebnisse von CRP, PCT und der Leukozytenzahl an beiden analysierten Tagen. CRP zeigte unter den klinisch etablierten Entzündungsmarkern das beste Ergebnis. Hinsichtlich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen erzielte der Prädiktor exzellente diagnostische Sicherheit. Daraus lässt sich folgern, dass CRP ein zuverlässiger Laborwert in der postoperativen Detektion von septischen Komplikationen ist. Insbesondere an Tag 4 scheint CRP geeignet zu sein, eine drohende intraabdominale septische Komplikation aufzuzeigen. Sollte CRP zukünftig in der postoperativen Routinediagnostik eingesetzt werden, so ist eine Messung am 4. Tag nach Operation zu empfehlen. PCT hingegen zeigte unzufriedenstellende Ergebnisse im Bezug auf beide Komplikationsarten. Es ist CRP deutlich unterlegen. Auch die Bestimmung der Leukozytenzahl übertraf die diagnostische Wertigkeit von CRP nicht und wies unzufriedenstellende diagnostische Güte im Hinblick auf die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen auf. Die Messung von PCT sowie der Leukozyten führte zu keiner supportiven Information im postoperativen inflammatorischen Monitoring.

4.2. Wertigkeit der innovativen experimentelle Entzündungsmarker

Nicht zuletzt ist aufgrund der folgenschweren Auswirkung von intraabdominalen septischen Komplikationen auf das Outcome der Patienten die Suche nach einem Biomarker mit prädiktivem Wert ein vorrangiges Ziel der aktuellen Forschung. Lediglich IL-6 wurde in wenigen Studien analysiert [107, 127]. Bislang ist keine Studie bekannt, die die experimentellen Marker mHLA-DR-Expression und Endotoxin hinsichtlich ihrer prognostischen Eigenschaft in der Detektion von postoperativen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz in der kolorektalen Chirurgie untersuchten.

IL-6 ist ein Zytokin, das von Zellen des angeborenen Immunsystems wie Makrophagen, dendritischen Zellen und Mastzellen, produziert wird. Seine Sekretion wird durch ein großes Spektrum an Stimuli initiiert. Gemeinsames Merkmal dieser Stimuli ist die Repräsentation von Gewebsschaden und Stress. Die physiologische IL-6-Konzentration im humanen Blut liegt bei unter 1 pg/ml [79]. Erhöhte Konzentrationen werden mit dem Vorliegen eines inflammatorischen Fokus assoziiert.

In dieser Studie wurde unter anderem die perioperative Dynamik von IL-6 dargestellt (Abbildung 20 und 21). Dabei lies sich beobachten, dass sowohl Patienten ohne postoperative Komplikation als auch Patienten mit postoperativer Komplikation (IASC, AI) nach durchgeführter Operation einen kurzfristigen Anstieg der IL-6-Konzentration am ersten Tag nach Operation aufwiesen. Bei Patienten ohne Komplikation erbrachte die Messung im weiteren postoperativen Verlauf einen deutlichen Abfall der IL-6-Konzentration, wobei am 4. bis 5. Tag wieder Normwerte erreicht wurden. Im Gegensatz dazu waren bei Patienten mit postoperativer Komplikation (IASC, AI) persistierend erhöhte IL-6-Konzentrationen im gesamten, weiteren Beobachtungszeitraum festzustellen. Der beobachtete kurzfristige postoperative Maximalwert der IL-6-Konzentration in beiden Patientengruppen lässt sich a.e. durch das Operationstrauma erklären. Es hat sich gezeigt, dass Operationstrauma und Gewebeschaden mit einer lokalen und systemischen Entzündungsreaktion assoziiert sind und mit einer gesteigerten Produktion an Zytokinen einhergehen [128]. Dies wurde durch die vorliegenden Ergebnisse bestätigt. Die persistierend erhöhte IL-6-Konzentration im Serum von Patienten mit Auftreten einer Komplikation (IASC bzw. AI) kann möglicherweise folgendermaßen erklärt werden: Im Rahmen eines unkomplizierten postoperativen Verlaufs kommt es durch das Operationstrauma neben der mäßigen systemischen Entzündungsreaktion zu einem lokalen, aber limitierten Entzündungsprozess. Zellen des angeborenen Immunsystems, die für die Heilung der abdominalen Operationswunde und des verursachten Gewebsschaden verantwortlich sind, schütten Zytokine aus. Es kommt zu dem beobachteten kurzfristigen Anstieg der IL-6-Konzentration. Im Falle einer undichten Anastomose kommt es durch die bakterielle Kontamination der Bauchhöhle mit intrainestinalen, bakteriellen Erregern sowie ggf. nekrotisch gewordenem Gewebe (z.B. Ischämie eines Darmabschnitts) zusätzlich zu einer massiven chemotaktischen Anziehung von Zellen des angeborenen Immunsystems und infolgedessen zu einer gesteigerten Zytokinausschüttung mit resultierender systemischer Entzündungsreaktion. Laborchemisch spiegelt sich dies in einer postoperativ fortbestehend erhöhten IL-6-Konzentration im Serum des Patienten wieder. Eine persistierend erhöhte IL-6-Konzentration bei Patienten mit stattgehabtem kolorektalen Eingriff in der frühen postoperativen Phase könnte daher möglicherweise das Auftreten einer infektiösen Komplikation anzeigen. Diese Annahme wird durch die vorliegende Studie sowie durch vorangegangene Studien gestützt [106, 107]. Ellebaek et al. publizierten, dass das Auftreten intraabdominaler septischer Komplikationen mit erhöhten IL-6-Konzentrationen in der frühen postoperativen Phase verbunden ist [106]. Zum gleichen Ergebnis kamen auch Alonso et al. [107]. Patienten mit infektiöser Komplikation oder Anastomosensuffizienz nach kolorektalem Eingriff wiesen postoperativ signifikant höhere IL-6-Konzentrationen auf.

In unserer Studie erreichte die gemessene IL-6-Konzentration am 4. Tag nach Operation sowohl hinsichtlich der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen als auch im Hinblick auf Anastomoseninsuffizienzen exzellente diagnostische Güte (Tabelle 15). Mit Blick auf die Vorhersage von intraabdominalen septischen Komplikationen erbrachte die Messung von IL-6 mit einer AUC von 0,8808 ein herausragendes Ergebnis. Ein anhand der ROC-Analyse berechneter Grenzwert von 27,0 pg/nl erzielte eine Sensitivität von 82,2%, eine Spezifität von 81,8%, einen positiv prädiktiven Wert von 55,1% und einen negativ prädiktiven Wert von 94,4%. Auch an 3. Tag nach Operation war eine zufriedenstellende diagnostische Sicherheit für beide Komplikationsarten festzustellen. Es lies sich also beobachten, dass IL-6 einen akkuraten und verlässlichen Marker insbesondere in der frühzeitigen Detektion von postoperativen intraabdominalen septischen Komplikationen darstellt. Eine Erhöhung der IL-6-Konzentration auf über 27,0 pg/nl am 4. Tag nach Operation sollte als hochverdächtig für das Vorliegen einer intraabdominalen septischen Komplikation angesehen werden.

Gegensätzlich zu unseren Ergebnissen publizierten Slotwinski et al. eine prospektive Studie, in welcher die Autoren schlussfolgerten, dass die IL-6-Konzentration keine Vorhersagekraft in der frühzeitigen Diagnose postoperativer infektiöser Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen besitzt [127]. Die Patientenzahl der Studie war jedoch wesentlich geringer und es war eine hohe Komplikationsrate zu verzeichnen. 22 Patienten mit kolorektalem Karzinom wurden in die Studie eingeschlossen. 13 der 22 eingeschlossenen Patienten (59%) entwickelten eine postoperative infektiöse Komplikation. Desweiteren wurde in der Studie die für die Fragestellung sinnvolle ROC-Analyse nicht angewandt. Weitere Studien, die die prädiktive Fähigkeit von IL-6 mit dieser Fragestellung untersuchten, sind zum Zeitpunkt nicht bekannt.

Die genaue Pathophysiologie der Anastomoseninsuffizienz ist noch immer unbekannt. Zum Verständnis der pathophysiologischen Vorgänge wird die *Two-Hit*-Hypothese der Sepsis diskutiert [51, 129, 130]. Diese besagt, dass ein initiales Ereignis das Immunsystem auf ein folgendes Ereignis vorbereitet. Als primäres Ereignis wird der operative Eingriff angesehen. Im Rahmen dieses primären Ereignisses kommt es zu einer Aktivierung der immunologischen Kaskade mit Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine [51]. In der Regel handelt es sich zunächst um eine Entzündungsreaktion, die lokal begrenzt ist. Ein *Second Hit*, beispielsweise das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz, führt dann zu einer überschießenden und unkontrollierten Ausschüttung proinflammatorischer Mediatoren die in weiterer Folge zu einer autodestruktiven Beeinträchtigung des Immunsystems führen [130]. Diese Phase wird durch systemische Hyperinflammation dominiert (SIRS, *Systemic Inflammatory Response syndrome*). Um die generalisierte überschießende

Entzündungsreaktion zu antagonisieren, kommt es in weiterer Folge zu einer gesteigerten Freisetzung antiinflammatorischer Mediatoren. Diese Gegenregulation resultiert in vorübergehender Immundepression (CARS, *Compensatory antiinflammatory response syndrome*) [129]. Im Kontext der Anastomoseninsuffizienz kommt es also mutmaßlich zu einer Imbalance des inflammatorischen Milieus, bevor es klinisch evident wird. Aus diesem Grund wäre ein Biomarker, der den aktuell vorliegenden Immunstatus des Patienten reflektiert, ein vielversprechender Ansatzpunkt zur Früherkennung infektiöser Komplikationen wie einer Anastomoseninsuffizienz.

Ein Marker, der in diesem Zusammenhang Information über den vorliegenden Immunstatus eines Patienten geben kann, könnte die HLA-DR-Expression auf Monozyten darstellen (mHLA-DR-Expression). HLA-DR gehört zu den MHC-Klasse II Molekülen und ist für die Antigen-Präsentation verantwortlich. Monozyten exprimieren HLA-DR in hohem Maße, wodurch die quantitative mHLA-DR-Expression durchflusszytometrisch gemessen werden kann [76]. Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass eine verringerte mHLA-DR-Expression mit erhöhtem Risiko einhergeht, eine infektiöse Komplikation nach kardio- und neurochirurgischem Eingriff zu erleiden [108, 109]. Bis heute ist keine Studie bekannt, die die prädiktive Wertigkeit der mHLA-DR-Expression im Hinblick auf die Vorhersage von infektiösen Komplikationen nach kolorektalem Eingriff untersucht hätte.

In dieser Studie zeigte sich, dass Patienten ohne postoperative Komplikation eine kurzzeitige Immunsuppression mit verminderter mHLA-DR-Expression am 1. und 2. postoperativen Tag aufwiesen (Abbildung 21 und 22). Ab dem 3. Tag lies sich eine Erholung im Sinne einer wieder ansteigenden mHLA-DR-Expression beobachten. Im Gegensatz dazu wiesen Patienten mit infektiöser Komplikation (IASC, AI) eine verminderte Expression an mHLA-DR als Surrogatparameter für eine persistierende Immunsuppression ab dem ersten Tag nach Operation auf. Im gesamten postoperativen Beobachtungszeitraum lies sich keine Rekonvaleszenz der mHLA-DR-Expression nachweisen. Ähnliche Ergebnisse publizierten Asadullah et al., die die mHLA-DR-Expression nach neurochirurgischem Eingriff untersuchten [109]. Patienten, die an einer infektiösen Komplikation nach neurochirurgischem Eingriff litten, legten im postoperativen Verlauf eine signifikant geringere mHLA-DR-Expression als Patienten ohne Komplikation dar. Auch Wakefield et al. kamen in ihrer Arbeit zu einem ähnlichen Ergebnis [131]. Sie zeigten, dass Patienten mit infektiöser Komplikation nach großem abdominalchirurgischen Eingriff eine postoperativ andauernd verminderte mHLA-DR-Expression aufwiesen. Aus den Ergebnissen kann gefolgert werden, dass eine postoperativ persistierend verminderte mHLA-DR-Expression möglicherweise in der Lage ist, eine infektiöse Komplikation frühzeitig anzuzeigen. Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse muss eine objektive Vergleichbarkeit der Studien kritisch

hinterfragt werden. Aufgrund der unterschiedlich angewandten Methoden ist ein Vergleich der Ergebnisse nur eingeschränkt möglich. Während in einigen der oben aufgeführten Studien sowie in unserer Arbeit der prozentuale Anteil der HLA-DR-positiven Monozyten bestimmt wurde, wurde in anderen Studie die mittlere Fluoreszenzintensität HLA-DR exprimierender Monozyten gemessen.

In der vorliegenden Arbeit wurde zudem die prädiktive Fähigkeit der mHLA-DR-Expression im Hinblick auf intraabdominale septische Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen geprüft. In der ROC-Analyse zeigte sich, dass die gemessene mHLA-DR-Expression an Tag 3 und Tag 4 ausgezeichnete diagnostische Güte im Bezug auf die Detektion von Anastomoseninsuffizienzen besitzt (Tabelle 13). Das beste Ergebnis zeigte sich am 3. postoperativen Tag. An diesem Tag wurde eine AUC von 0,9267 erreicht. Ein berechneter Grenzwert der mHLA-DR-Expression von 43,4% erzielte eine Sensitivität von 76,6%, eine Spezifität von 100%, einen negativ prädiktiven Wert von 94,6% und einen positiv prädiktiven Wert von 100% für die Detektion von Anastomoseninsuffizienzen (Tabelle 15). Hiermit stellte sich der Serum-Marker mit hervorragenden Eigenschaften und somit großem Potenzial dar. Fällt die mHLA-DR-Expression postoperativ an Tag 3 unterhalb eines Schwellenwertes von 43,4% sollte das Vorliegen einer Nahtinsuffizienz kritisch geprüft werden. Auch mit Blick auf die Vorhersage von intraabdominalen septischen Komplikationen konnte die Messung der mHLA-DR-Expression an Tag 3 mit einer AUC von 0,8005 ein sehr gutes Ergebnis erreichen. Bei einem mittels ROC-Analyse errechneten Grenzwert der mHLA-DR-Expression von 45,8% erzielte eine Sensitivität von 86,1% und eine Spezifität von 69,2%. Der negativ prädiktive Wert erzielte 93,6% und der positiv prädiktive Wert lag bei 48,9%. Bei Auftreten einer mHLA-DR-Expression unter 45,8% am 3. Tag nach Operation sollte das Vorliegen einer postoperativen intraabdominalen septischen Komplikation beispielsweise mittels Schnittbildgebung oder Endoskopie ausgeschlossen werden.

Die Messung der mHLA-DR-Expression zeigte sich als zuverlässiger Marker mit zufriedenstellender prognostischer Fähigkeit hinsichtlich der Detektion von infektiösen Komplikationen. Insbesondere in der Detektion von Anastomoseninsuffizienzen erreichte der innovative Laborwert herausragende diagnostische Sicherheit. In den letzten Jahren wurde keine weitere Studie veröffentlicht, die die prädiktive Wertigkeit der mHLA-DR-Expression nach kolorektalen Eingriffen untersuchte. Strohmayer et al. evaluierten 2003 die prädiktive Fähigkeit von HLA-DR hinsichtlich infektiöser Komplikationen nach Anwendung der Herz-Lungen-Maschine im Rahmen eines kardiochirurgischen Eingriffs [108]. 56 Patienten wurden eingeschlossen und in 3 Gruppen klassifiziert, zum einen in eine solche mit Patienten ohne postoperative infektiöse Komplikation, in eine solche mit Patienten mit infektiöser Komplikation ohne positiven mikrobiologischem Erregernachweis sowie zuletzt in eine

Gruppe mit Patienten mit infektiöser Komplikation und positiven mikrobiologischem Erregernachweis. Beide Komplikationsgruppen zeigten verglichen mit komplikationsfreien Patienten eine signifikant geringere HLA-DR-Expression auf Monozyten im postoperativen Verlauf. Zusätzlich wurde die diagnostische Wertigkeit der mHLA-DR-Expression am 1. postoperativen Tag hinsichtlich des Aufzeigens von postoperativen infektiösen Komplikationen untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die mHLA-DR-Expression zufriedenstellende Diskriminationskraft besitzt und eine frühzeitige Unterscheidung zwischen den Patientengruppen gelingt. Obwohl beide Studien ein gänzlich heterogenes Patientengut untersuchten und die HLA-DR-Expression auf Monozyten in beiden Studien durch unterschiedliche Antikörper gemessen wurde, lässt die Übereinstimmung der Ergebnisse beider Arbeiten darauf schließen, dass die mHLA-DR-Expression von erheblichem diagnostischen Potential in der frühzeitigen Detektion von postoperativen infektiösen Komplikationen sein könnte. Des Weiteren kann durch die Ergebnisse postuliert werden, dass die mHLA-DR-Expression einen verlässlichen Marker der postoperativen infektionsinduzierten Immunsuppression darstellt und damit die Identifikation von Patienten mit erhöhtem Risiko einer postoperativen infektiösen Komplikation ermöglichen könnte. Ein Punkt sollte jedoch nicht außer Acht gelassen werden. Die mHLA-DR-Expression wird etwa durch zahlreiche Faktoren beeinflusst. Es ist bekannt, dass die hochdosierte Einnahme von Steroiden, das Vorliegen einer mit Immunsuppression einhergehenden Erkrankung (z.B. HIV) oder regelmäßige Dialysen mit Immunsuppression einhergeht. Die Zuverlässigkeit des Markers würde bei gleichzeitigem Vorliegen einer immunsuppressiven Therapie oder Erkrankung möglicherweise beeinträchtigt. Eine Analyse dieser Fragestellung wurde in der Studie nicht durchgeführt.

Zusammengefasst zeigt sich die mHLA-DR-Expression als einen vielversprechenden Serum-Marker der sich insbesondere in der Vorhersage von Nahtinsuffizienzen als sehr zuverlässig darstellte. Bei der Bestimmung der mHLA-DR-Expression vorrangig am 3. postoperativen Tag war eine ausgezeichnete prädiktive Fähigkeit des Serum-Markers zu beobachten. Somit sollte bei Absinken der mHLA-DR-Expression unter einen Grenzwert von 43,4% das Vorliegen einer Nahtinsuffizienz kritisch hinterfragt werden.

Endotoxin, ein integraler Bestandteil der Zellwand gramnegativer Bakterien, ist ein pathogenassoziiertes molekulares Muster (PAMP), das durch die Aktivierung von Makrophagen und anderen Leukozyten die Ausschüttung verschiedener proinflammatorischer Mediatoren stimuliert. Endotoxin stellt einen der potentesten Aktivatoren des angeborenen Immunsystems dar und spielt eine wesentliche Rolle in der Entwicklung einer gramnegativen Sepsis. Verabreicht man einem Menschen experimentell Endotoxin (2ng/kg) kommt es innerhalb von Minuten zum Auftreten Sepsis-typischer

Symptome, zur Aktivierung des Komplement- und Koagulationssystems sowie zur Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine [84]. Schwerwiegende Endotoxämie führt zur disseminierten intravasalen Koagulopathie und durch die damit verbundenen Zirkulationsstörungen mit Organschädigung schließlich zu Multiorganversagen und Tod.

Aufgrund der Prädominanz gramnegativer Bakterien stellt der Darm das zentrale Reservoir für Erreger einer gramnegativen Sepsis dar [83, 132]. Durch eine auftretende Nahtinsuffizienz kommt es zu einem Übertritt gramnegativer Bakterien in die Bauchhöhle. Die Kontamination mit infektiösem Material führt entweder zur kompetenten Beseitigung der Erreger durch das intakte Immunsystem oder aber zur Etablierung einer systemischen Entzündungsreaktion (*Systemic inflammatory response syndrome, SIRS*) mit Endotoxämie. Studien haben gezeigt, dass die gleichzeitige Detektion von gramnegativen Bakterien und Endotoxämie prädiktiv für ein erhöhtes Mortalitätsrisiko ist [133]. Dementsprechend könnte die Identifizierung von Patienten mit erhöhtem Endotoxinlevel hilfreich sein, um ein frühzeitiges Eingreifen zu ermöglichen und durch frühzeitige Intervention die postoperative Mortalität nach kolorektalen Eingriffen zu senken.

Die Analyse der prädiktiven Wertigkeit von Endotoxin ergab in dieser Studie keine überzeugenden Ergebnisse. Sowohl die Messung von Endotoxin an Tag 3 als auch an Tag 4 erbrachte unzureichende diagnostische Sicherheit in der Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen. Betrachtet man den Verlauf der Graphen in Abbildung 28B und D, so ist festzustellen, dass dieser nahe der Winkelhalbierenden verläuft bzw. die Winkelhalbierende schneidet. Das bedeutet, dass die Diskriminationskraft der Endotoxin-Messung lediglich einem zufälligen Ergebnis entspricht. Auch hinsichtlich der frühzeitigen Diagnose von Anastomoseninsuffizienzen zeigten sich ähnliche Ergebnisse mit fehlender Diskriminationsfähigkeit. Die Bestimmung des Endotoxinlevels am 3. oder 4. Tag nach Operation leistete somit keinen supportiven Beitrag in der frühzeitigen Identifikation von Patienten mit postoperativer infektiöser Komplikation bzw. Nahtinsuffizienz. Bisher wurde Endotoxin in keiner weiteren Studie hinsichtlich seiner diagnostischen Wertigkeit in der kolorektalen Chirurgie untersucht.

4.3. Wertigkeit des CRP, IL-6 und der mHLA-DR-Expression im Vergleich

Im Folgenden werden die Ergebnisse der besten Marker miteinander verglichen (Tabelle 17).

CRP legte seine größte diagnostische Güte am 4. Tag nach Operation dar. Die Messung der CRP-Konzentration zu diesem Zeitpunkt wies im Hinblick auf die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen exzellente Diskriminationsfähigkeit auf und war

der mHLA-DR-Expression überlegen. Die Messung von IL-6 wies, übereinstimmend mit der des CRP, die beste diagnostische Güte ebenfalls am 4. Tag nach Operation auf. Für diesen Zeitpunkt erzielte IL-6 ausgezeichnete diagnostische Güte hinsichtlich der Vorhersage intraabdominaler septischer Komplikationen und übertraf sowohl CRP als auch die mHLA-DR-Expression. Des Weiteren zeigte sich IL-6 sowohl am dritten als auch am vierten postoperativen Tag dem CRP in der Vorhersage von Nahtinsuffizienzen überlegen. Die Messung der mHLA-DR-Expression an Tag 3 erbrachte ausgezeichnete Ergebnisse, und der Marker war CRP und IL-6 sowohl in der Prädiktion einer intraabdominalen septischen Komplikation als auch in der Vorhersage einer Anastomoseninsuffizienz deutlich überlegen. Auch an Tag 4 erbrachte die Bestimmung der mHLA-DR-Expression ausgezeichnete diagnostische Sicherheit. Hier stellte sich der Marker hinsichtlich der Vorhersage einer Anastomoseninsuffizienz gegenüber CRP und IL-6 als dominant dar. Mit Blick auf den Nachweis intraabdominaler septischer Komplikationen war die mHLA-DR-Expression zu diesem Zeitpunkt sowohl CRP als auch IL-6 unterlegen.

Die oben genannten Marker konnten in der vorliegenden Arbeit vielversprechende Ergebnisse erzielen und bieten eine zuverlässige Möglichkeit, Patienten mit postoperativer Komplikation zu identifizieren. Dennoch dürfen, trotz der vielversprechenden Ergebnisse einige Aspekte nicht außer Acht gelassen werden. Ein idealer Biomarker muss, wie bereits erwähnt, einige Eigenschaften erfüllen, um sich klinisch etablieren zu können. Die Messung des Biomarkers sollte leicht und in klinischen Standardlaboratorien durchführbar sein. Er sollte unabhängig von Komorbiditäten des Patienten sein, rasch nach schädigendem Ereignis ansteigen bzw. abfallen und sich rapide nach Sistieren des proinflammatorischen Reizes wieder seinem Ausgangswert nähern. Er sollte eine hohe Sensitivität bezüglich der Erkrankung und eine hohe Spezifität für den schädigenden Einfluss besitzen. Während die Messung von CRP ein kostengünstiges vollautomatisiertes Standardverfahren ist, handelt es sich im Fall der mHLA-DR-Expression um ein sehr aufwendiges Messverfahren, das bei routinemäßigem laboratoriumsmedizinischen Einsatz einen aus ökonomischer Sicht schwer vertretbaren Zeit- und Kostenfaktor mit sich bringen würde. Die Analyse der mHLA-DR-Expression muss manuell von einer Person durchgeführt werden und ist mit dementsprechend höherem Kosten- und Zeitaufwand verbunden. Trotz des aufwendigen Messverfahrens der mHLA-DR-Expression wäre die Anwendung im Rahmen eines selektierten Patientenkollektivs dennoch vertretbar. Insbesondere Hochrisikopatienten wie beispielweise Patienten nach Rektumresektion, Patienten mit Immunsuppression oder solche die die Anlage eines protektiven Stomas ablehnen, könnten von der Erhebung des innovativen Biomarkers wesentlich profitieren. Im Deutschen Herzzentrum Berlin wird aufgrund der vielversprechenden Eigenschaften von mHLA-DR-Expression die postoperative

Messung bereits seit einigen Jahren mit großem Erfolg zur Überwachung von herztransplantierten Patienten eingesetzt [134].

Die routinemäßige Anwendung von IL-6 wäre, trotz der im Vergleich mit CRP wesentlich höheren Kosten (0,74€ *versus* 8,75€), vertretbar [135]. Das Auftreten einer postoperativen infektiösen Komplikation nach kolorektalem Eingriff verursacht jährlich signifikante Ausgaben [52, 117, 136]. Diese durch postoperative Morbidität und Mortalität verursachten Kosten könnten durch die routinemäßige Anwendung von IL-6 maßgeblich reduziert werden. Eine frühzeitige Detektion von infektiösen Komplikationen durch die perioperative IL-6 Bestimmung würde ein frühzeitiges Eingreifen ermöglichen und dadurch die durch postoperative Morbidität verursachten Ausgaben senken. Ob die routinemäßige IL-6 Messung die durch postoperative Komplikationen verursachten Kosten übersteigt, ist fraglich. Eine ökonomische Analyse hinsichtlich der Wirtschaftlichkeit wurde in der vorliegenden Studie nicht durchgeführt und sollte Gegenstand der weiteren Forschung sein.

Zusammengefasst konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass CRP als klinisch etablierter Marker einen hohen Stellenwert in der postoperativen Überwachung von Patienten nach kolorektalem Eingriff einnimmt. Die Bestimmung des Serum-Markers insbesondere am 4. postoperativen Tag verfügt im Hinblick auf die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen über exzellente Diskriminationsfähigkeit. Noch besser als CRP stellte sich IL-6 dar. Der Serum-Marker wies insbesondere an Tag 4 nach Operation ausgezeichnete Ergebnisse hinsichtlich der frühzeitigen Erkennung septischer Komplikationen auf und übertraf das CRP. Mit Blick auf die Vorhersage von Anastomoseninsuffizienzen konnte die mHLA-DR-Expression als innovativer Marker mit ausgezeichneter prädiktiver Fähigkeit überzeugen. Der Biomarker demonstrierte seine beste diagnostische Güte am 3. Tag nach Operation und war bezüglich der Vorhersage von Nahtinsuffizienzen an beiden gemessenen Tagen sowohl IL-6 als auch CRP überlegen.

4.4. Limitationen der Studie

Die durchgeführte Studie weist Grenzen auf, denen besondere Beachtung bei der Interpretation und Diskussion der Ergebnisse geschenkt werden muss. Führender Kritikpunkt ist die Patientenzahl. Aufgrund der niedrigen Fallzahl muss die Bewertung der vorliegenden Ergebnisse kritisch erfolgen. Die kleine Probandenzahl resultiert aus dem anspruchsvollen und äußerst umfangreichen klinischen Studienaufbau, aus der aufwändigen Versuchsdurchführung insbesondere der Messung der experimentellen Biomarker sowie aus dem postoperativen Beobachtungszeitraum.

Eine entscheidende Schwierigkeit von Studien, die sich mit der Detektion von Anastomoseninsuffizienzen beschäftigen, ist die zum einen uneinheitliche Definition und die zum anderen diffizile Diagnose einer Nahtinsuffizienz. Wie bereits in vorangegangener Literatur kritisiert, variieren die Definitionen stark [112, 137]. Während das Vorliegen einer Anastomoseninsuffizienz in einer Studie durch die Sekretion von putridem Drainagesekret definiert ist, liegt in ein anderen Arbeit eine Nahtinsuffizienz nur bei augenscheinlicher endoskopischer Darstellung vor [51, 112]. Diese Varietät an Definitionen dezimiert die objektive Vergleichbarkeit vorliegender Literatur. Die Diagnose einer Anastomoseninsuffizienz erfolgt primär durch die klinische Beurteilung des Patienten unter Berücksichtigung bestimmter Symptome. Dennoch hat sich gezeigt, dass nicht jede Anastomoseninsuffizienz mit charakteristischen klinischen Symptomen einhergeht und dass das Vorliegen definierter Symptome als Hinweis für eine Anastomoseninsuffizienz fehlgedeutet werden kann [101]. Nicht jede aufgetretene Anastomoseninsuffizienz tritt klinisch in Erscheinung. Es stellt sich daher die Frage, ob sämtliche eine Anastomoseninsuffizienz erleidenden Patienten erkannt wurden. Grundsätzlich sollte jeder Patient, bei nur geringgradigem Verdacht einer vorliegenden Anastomoseninsuffizienz, einer zielgerichteten Diagnostik zugeführt werden. Bei fehlenden klinischen Symptomen, gutem Allgemeinzustand und Nichtvorliegen stark erhöhter Serum-Marker wurde in der Regel keine weitere Diagnostik durchgeführt. Dies bedeutet, dass klinisch inapparente Nahtinsuffizienzen möglicherweise nicht diagnostiziert wurden.

Additiv trägt die Beurteilung des austretenden Sekrets einer intraoperativ eingebrachten Drainage in der Entscheidungsfindung, ob der Patient unter einer möglichen Anastomoseninsuffizienz leidet, bei. Kommt es zu einer Veränderung des Wundsekrets (von serös über putride bis hin zu stuhlig), kann dies als Indikator für das Vorliegen eines intraabdominalen pathologischen Prozesses gewertet werden. Eine Studie von de Jesus et al. hat gezeigt, dass die prophylaktische Einlage einer Drainage nach kolorektalem Eingriff keinen Vorteil in der postoperativen Detektion von Anastomoseninsuffizienzen bringt [122]. Gingold et al. erachteten dies sogar als nachteilig [138]. Aktuell liegt keine Empfehlung über die Anwendung von Drainagensystemen nach kolorektalen Eingriffen vor. Nichtsdestotrotz ist das Einbringen von Drainagen klinische Praxis. Es wird als supportiv in der Beurteilung der intraabdominalen Begebenheiten angesehen und erleichtert die Identifizierung von Patienten mit vorliegender Nahtinsuffizienz. Nicht alle in diese Studie eingeschlossenen Patienten erhielten perioperativ eine Drainage, so dass das postoperative Monitoring der Patienten möglicherweise nicht gänzlich ausgeglichen war.

Ein weiterer Faktor, der berücksichtigt werden muss, ist die Inhomogenität der Studienkohorte. Optimal wäre die Generierung eines homogenen Patientenkollektivs

gleichen Alters mit identischem operativen Eingriff, das sich lediglich durch die Entstehung von Komplikationen unterscheidet. Dies ist jedoch schwierig zu realisieren. Im Patientenkollektiv dieser Studie fanden sich sowohl Patienten mit maligner Erkrankung als auch Patienten mit akut oder chronisch entzündlicher Darmerkrankung. Patienten, die an einem Malignom leiden, weisen nicht selten einen Nährstoffmangel auf. Es hat sich gezeigt, dass schlechter Ernährungsstatus einen möglichen Risikofaktor für das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz darstellt und das Vorliegen eines Zinkmangels die Anastomosenheilung negativ beeinflusst [47, 139]. Desweiteren fanden sich sowohl junge gesunde Patienten als auch geriatrische Patienten mit ausgeprägter Komorbidität. Eine ASA-Score > 3 stellt einen unabhängigen Risikofaktor für das Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz dar [38]. Zudem war die Höhe der angelegten Anastomose unterschiedlich. Studien haben gezeigt, dass die Höhe der angelegten Anastomose den einflussreichsten Risikofaktor der Anastomoseninsuffizienz darstellt [41, 42]. Es können noch weitere Merkmale des Patientenkollektivs genannt werden, die nicht kalkulierbare Risikofaktoren darstellen.

Eine weitere Einschränkung der vorliegenden Studie ergibt sich aus einem möglichen Medikamenteneinfluss auf die Höhe der Serum-Marker, der unberücksichtigt blieb. 7% der eingeschlossenen Patienten litten unter einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung, die häufig durch Anwendung von topischen oder systemischen Glukokortikoiden therapiert werden. Es ist bekannt, dass die Einnahme von Glukokortikoiden die Entzündungsreaktion verändert und daraus in weiterer Konsequenz eine Verfälschung der Höhe der gemessenen Serum-Marker resultiert [140, 141]. Desweiteren wurde in der vorliegenden Studie nicht zwischen Patienten mit Resektionen des Kolons und des Rektums unterschieden. Auch hierbei wurden unterschiedlich ausgeprägte inflammatorische Reaktionen beschrieben [142].

Einen weiteren limitierenden Faktor stellt der unterschiedliche operative Zugangsweg dar. Die Mehrheit der Patienten in der durchgeführten Studie wurde offen operiert. Daher lassen sich die erhobenen Ergebnisse möglicherweise nicht auf laparoskopische Eingriffe übertragen. Studien haben gezeigt, dass laparoskopische Eingriffe mit einer verminderten inflammatorischen Reaktion einhergehen [143, 144].

5. ZUSAMMENFASSUNG

Mit 34% aller im Klinikum Großhadern in 2017 durchgeführten abdominalchirurgischen Eingriffe nimmt die Kolorektalchirurgie einen großen Stellenwert ein. Allerdings ist die Rate an postoperativen septischen Komplikationen mit bis zu 23% immer noch relevant [10]. Aufgrund des ausgeprägten negativen Einflusses, welchen postoperative septische Komplikationen (intraabdominale septische Komplikationen, IASC bzw. Anastomoseninsuffizienz, AI) auf das kurz- und langfristige Outcome der Patienten haben, bedürfen diese einer frühzeitigen und akkuraten Diagnose. Die rein klinische Beurteilung der Patienten ist insbesondere aufgrund des variablen klinischen Bildes ein unzuverlässiger Parameter. Daneben geben auch pathologische laborchemische Veränderungen einen Hinweis auf die o.g. Komplikationen. Die Identifikation neuer Serum-Marker zur frühzeitigen Detektion postoperativer septischer Komplikationen wäre ein großer Fortschritt in der kolorektalen Chirurgie. Eine frühzeitige Diagnosestellung ermöglicht die Einleitung einer effektiven Therapie und resultiert in einer Reduktion der Morbidität.

In der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen einer explorativen monozentrischen, prospektiven ex-vivo Studie bei Patienten mit kolorektalen Eingriffen, bei denen intraoperativ eine Kolonanastomosen-Anlage erfolgte, zum einen die klinisch etablierten Serum-Marker Leukozytenzahl, C-reaktives Protein und Procalcitonin, sowie zum anderen die innovativen experimentellen Biomarker Interleukin-6, mHLA-DR-Expression und Endotoxin präoperativ (Tag 0) sowie postoperativ täglich (Tag 1 bis Tag 7) gemessen.

Ziel der Arbeit war es, sowohl die klinisch etablierten Marker als auch die innovativen experimentellen Marker auf ihre diagnostische Wertigkeit hinsichtlich der Vorhersage von intraabdominalen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienz nach durchgeführtem kolorektalem Eingriff zu untersuchen. Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der ROC-Analyse. Die *areas under the curve* an Tag 3 und Tag 4 wurden als primärer Endpunkt analysiert, um die Diskriminationsfähigkeit der o.g. Biomarker in der Detektion von postoperativen septischen Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen zu bewerten und miteinander zu vergleichen.

Insgesamt 61 Patienten wurden eingeschlossen. Es zeigte sich eine Inzidenz postoperativer septischer Komplikationen von 21%, wovon wiederum 69% an einer Anastomoseninsuffizienz litten. Die Mortalität lag bei 0%.

Es konnte gezeigt werden, dass CRP, gemessen am 4. postoperativen Tag mit einer AUC von 0,8463 ausgezeichnete diagnostische Sicherheit in der Vorhersage von

intraabdominalen septischen Komplikationen besitzt. Die Messung der CRP-Konzentration war somit gegenüber der Leukozytenzahl und PCT dominant (AUC von 0,6323 vs. 0,6777). Herausragende Ergebnisse erzielte die Messung von IL-6 am 4. Tag nach Operation im Nachweis intraabdominaler septischer Komplikationen. Der Biomarker erreichte, mit einer AUC von 0,8808, ausgezeichnete diagnostische Güte und war sowohl CRP als auch PCT und der Leukozytenzahl überlegen (AUC von 0,8463 vs. 0,6777 vs. 0,6323). Ein errechneter Grenzwert von 27,0 pg/ml war mit einer Sensitivität von 82,2%, einer Spezifität von 81,8% und einem negativ prädiktiven Wert von 94,4% vergesellschaftet. Ebenso die Messung der mHLA-DR-Expression legte in der Prädiktion von Anastomoseninsuffizienzen sehr hohe Genauigkeit dar und erbrachte am 3. postoperativen Tag eine AUC von 0,9267. Der innovative Serum-Marker zeigte sich sowohl CRP, PCT und der Leukozytenzahl als auch IL-6 überlegen (AUC von 0,7056 vs. 0,6722 vs. 0,7342 vs. 0,7467). Ein *Cut-off* der mHLA-DR-Expression von 41,6% war mit einer Sensitivität von 73,9%, einer Spezifität von 100%, einem negativ prädiktiven Wert von 94% und einem positiv prädiktiven Wert von 100% assoziiert.

Zusammengefasst konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass CRP als klinisch etablierter Marker einen hohen Stellenwert in der postoperativen Überwachung von Patienten nach kolorektalem Eingriff einnimmt. Noch besser stellte sich jedoch IL-6 dar und wies, insbesondere hinsichtlich der frühzeitigen Erkennung septischer Komplikationen, ausgezeichnete Ergebnisse auf. Im Bezug auf den frühzeitigen Nachweis von Nahtinsuffizienzen demonstrierte der innovative experimentelle Marker mHLA-DR ausgezeichnete prädiktive Fähigkeit. IL-6 sowie die mHLA-DR-Expression scheinen somit vielversprechende Serum-Marker mit großem Potenzial in der Prädiktion drohender postoperativer septischer Komplikationen zu sein.

6. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Standards der angewendeten Anastomosentechniken	5
Tabelle 2: Literaturübersicht prospektiver Studien über die Rate an Anastomoseninsuffizienzen sowie über die Mortalität nach Auftreten einer Anastomoseninsuffizienz. Eingeschlossen wurden Patienten die eine Rektumresektion mit folgender Anlage einer kolorektalen Anastomose erhielten.	8
Tabelle 3: Potenzielle Risikofaktoren für eine Anastomoseninsuffizienz [39-44, 46-50]	9
Tabelle 4: Geräte.....	20
Tabelle 5: Verbrauchsmaterialien	21
Tabelle 6: Chemikalien	21
Tabelle 7: Antikörperkonjugate	22
Tabelle 8: Übersicht über die Patientencharakteristika.	32
Tabelle 9: Diagnostische Sicherheit der Leukozytenzahl zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.....	37
Tabelle 10: Diagnostische Sicherheit von CRP (mg/dl) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienz (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.	42
Tabelle 11: Diagnostische Sicherheit von PCT (ng/ml) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.	46
Tabelle 12: Diagnostische Sicherheit von IL-6 (pg/ml) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.	52
Tabelle 13: Diagnostische Sicherheit der mHLA-DR-Expression zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 4.	56

Tabelle 14: Diagnostische Sicherheit der Endotoxin-Aktivität (RLU) zur Diagnose intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) bzw. Anastomoseninsuffizienzen (AI) an den postoperativen Tagen 3 und 459

Tabelle 15: Übersicht über die *area under the curve* (AUC), Sensitivität, Spezifität, den negativ prädiktiven Wert und den positiv prädiktiven Wert mit dem jeweilig erhobenen *Cut-off* der untersuchten Biomarker an Tag 3 und Tag 4 nach Operation62

Tabelle 16: Vergleich der diagnostischen Güte des CRP (mg/dl), PCT (ng/ml) und der Leukozytenzahl (G/l) an den postoperativen Tagen 3 und 4. AUC: *area under the curve*, IASC: intraabdominale septische Komplikation, AI: Anastomoseninsuffizienz63

Tabelle 17: Vergleich der diagnostischen Güte des CRP (mg/dl), IL-6 (pg/ml) und der mHLA-DR-Expression (%) an den postoperativen Tagen 3 und 4. AUC: *area under the curve*, IASC: intraabdominale septische Komplikation, AI: Anastomoseninsuffizienz63

Tabelle 18: Vergleich der *area under the curve* sowie der Sensitivität von CRP (mg/dl) an den postoperativen Tagen 3 und 4 für die Detektion von intraabdominalen septischen Komplikationen (IASC) und Anastomoseninsuffizienzen (AI) in der vorliegenden sowie in ausgewählten publizierten Studien.70

Tabelle 19: Vergleich der diagnostischen Güte von PCT (ng/ml) und CRP (mg/dl) an den postoperativen Tagen 3 und 4 hinsichtlich der Detektion intraabdominaler septischer Komplikationen (IASC) und Anastomoseninsuffizienz (AI) ausgewählter Studien.....73

7. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Struktur von LPS [82].....	15
Abbildung 2: Schemazeichnung Studienablauf D: Tag, OP: Operation.....	19
Abbildung 3: Reaktionsweise des <i>Endotoxin-Activity-Assay</i> TM (modifiziert nach [90]) LPS: Lipopolysaccharid, C3b: Komplement-Faktor 3b, IgM: Immunglobulin M, CR1: Komplement- Rezeptor 1, CR3: Komplement-Rezeptor 3	23
Abbildung 4: Pipettierschema <i>Endotoxin Activity Assay</i> TM	24
Abbildung 5: Funktionsweise der FACS-Analyse (modifiziert nach [55])	26
Abbildung 6: Streulicht <i>Dot-Plot</i> (modifiziert nach [55]) Die Darstellung erfolgt mit Hilfe einer sogenannten <i>Dot-Plot</i> Graphik. Hierbei wird die Größe der Zellen auf der x-Achse und die Granularität der Zellen auf der y-Achse aufgetragen. SSC: <i>Side Scatter</i> , FSC: <i>Forward Scatter</i>	27
Abbildung 7: Beispiel für die Auswertung der FACS-Messung mit Hilfe der Software WinMDI 2.9.....	28
Abbildung 8 Kinetik der Leukozytenzahl (G/l) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzbereich der Leukozytenzahl (4 G/l – 10 G/l) dar.	33
Abbildung 9 Kinetik der Leukozytenzahl (G/l) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) im Vergleich zu Patienten ohne postoperative Komplikation.....	34
Abbildung 10: Kinetik der Leukozytenzahl (G/L) bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) 5 Tage vor Diagnosestellung (- 1 bis - 5), am Tag der Diagnosestellung (0) und an den folgenden 5 Tagen (1 bis 5) nach Diagnosestellung	34
Abbildung 11 Diagnostische Sicherheit der Leukozytenzahl (G/l) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve und die dazugehörige <i>area under the curve</i> am postoperativen Tag 3 und Tag 4.....	36
Abbildung 12 Kinetik der CRP-Konzentration (mg/dl) im Blut am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative	

intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzwert von CRP (<0,5 mg/dl) dar.....	38
Abbildung 13 Kinetik der CRP-Konzentration (mg/dl) im Blut am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) im Vergleich zu Patienten ohne postoperative Komplikation.....	38
Abbildung 14: CRP-Konzentration (mg/dl) bei Patienten mit intraabdominaler septischer Komplikation (IASC) 5 Tage vor Diagnosestellung (- 1 bis - 5), am Tag der Diagnosestellung (0) und an den folgenden 5 Tagen (1 bis 5) nach Diagnosestellung	39
Abbildung 15 Diagnostische Sicherheit der CRP-Konzentration (mg/dl) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve und die dazugehörige <i>area under the curve</i> am postoperativen Tag 3 und Tag 4.....	41
Abbildung 16 Durchschnittliche Konzentration von PCT (ng/ml) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikationen (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzwert von PCT (<0,1 ng/ml) dar.....	43
Abbildung 17 Durchschnittliche Konzentration von PCT (ng/ml) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) im Vergleich mit Patienten ohne Komplikation.....	43
Abbildung 18 Diagnostische Sicherheit der PCT-Konzentration (ng/ml) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.....	45
Abbildung 19 Boxplotsdarstellung der klinisch etablierten Marker Leukozyten (G/l), CRP (mg/dl) und PCT (ng/ml) am 4. postoperativen Tag bei Patienten ohne und mit postoperativer Komplikation (IASC, AI).....	47
Abbildung 20 Kinetik der durchschnittlichen IL-6-Konzentration (mg/dl) im Blut am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne postoperative intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich). Die rot-weiß gestrichelte Linie stellt den Referenzwert von IL-6 (pg/ml) dar.....	49
Abbildung 21 Kinetik der durchschnittlichen IL-6-Konzentration (pg/ml) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) im Vergleich zu Patienten ohne Komplikation.	49

Abbildung 22 Diagnostische Sicherheit der IL-6-Konzentration (pg/ml) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.	51
Abbildung 23 Kinetik der durchschnittlichen mHLA-DR-Expression (%) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Aktuell ist kein definierter physiologischer Referenzbereich der mHLA-DR-Expression bekannt, daher fehlt dieser in der Abbildung.	53
Abbildung 24 Kinetik der durchschnittlichen mHLA-DR-Expression (%) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) und ohne postoperative Komplikation im Vergleich. Aktuell ist kein definierter physiologischer Referenzbereich der mHLA-DR-Expression bekannt, daher fehlt dieser in der Abbildung.	53
Abbildung 25 Diagnostische Sicherheit der mHLA-DR-Expression (%) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.	55
Abbildung 26 Kinetik der durchschnittlichen Endotoxin-Aktivität (RLU) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit und ohne intraabdominale septische Komplikation (IASC) im Vergleich. Die rot-weiß gestrichelten Linien unterteilen in <i>Low level</i> ($\leq 0,39$ RLU) <i>Middle Level</i> (0,40 – 0,59 RLU) und <i>High Level</i> ($\geq 0,60$ RLU) Endotoxin-Aktivität.	56
Abbildung 27 Kinetik der durchschnittlichen Endotoxin-Aktivität (RLU) am Tag vor der Operation (0) sowie an den postoperativen Tagen 1 bis 9 bei Patienten mit Anastomoseninsuffizienz (AI) im Vergleich mit Patienten ohne postoperative Komplikation.	57
Abbildung 28 Diagnostische Sicherheit von Endotoxin (RLU) hinsichtlich des Auftretens intraabdominaler septischer Komplikationen und Anastomoseninsuffizienzen dargestellt durch eine ROC-Kurve am postoperativen Tag 3 und Tag 4.	58
Abbildung 29 Boxplotsdarstellung der innovativen experimentellen Marker IL-6 (pg/ml), mHLA-DR-Expression(%) und Endotoxin (RLU) am 4. postoperativen Tag bei Patienten ohne und mit postoperativer Komplikation (IASC, AI).	61

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Zilles, K.T., N. , *Anatomie*. 2010: Springer.
2. Benninghoff, A.D., D, *Anatomie*. Vol. 17. 2008: Elsevier 968.
3. de Gruyter, W., *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch*. Vol. 261., neu bearbeitete Auflage. 2007.
4. Max, E., et al., *Results of 1,000 single-layer continuous polypropylene intestinal anastomoses*. Am J Surg, 1991. **162**(5): p. 461-7.
5. Wolf, A.M.H.-B., D., *Anastomoseninsuffizienz im Gastrointestinaltrakt*. Der Chirurg, 2002. **73**: p. 394-407.
6. Schumpelick, V.S., J.R.; Rothmund, M., *Praxis der Viszeralchirurgie: Gastroenterologische Chirurgie*, ed. Springer-Verlag. Vol. 2. 2006.
7. Eigler, F.W.P.J.-H.S., F.W.; Witte, J.; Zumtobel, V., *Stand und Gegenstand chirurgischer Forschung*. 2013: Springer-Verlag.
8. Pearse, R.M., et al., *Mortality after surgery in Europe: a 7 day cohort study*. Lancet, 2012. **380**(9847): p. 1059-65.
9. Nimptsch, U. and T. Mansky, *[Disease-specific patterns of hospital care in Germany analyzed via the German Inpatient Quality Indicators (G-IQI)]*. Dtsch Med Wochenschr, 2012. **137**(28-29): p. 1449-57.
10. Alves, A., et al., *Postoperative mortality and morbidity in French patients undergoing colorectal surgery: results of a prospective multicenter study*. Arch Surg, 2005. **140**(3): p. 278-83, discussion 284.
11. Werner, J., Sauer, P., *Nahtinsuffizienz intestinaler Anastomosen: Endoskopische und laparoskopische Therapieoptionen*. Viszeralmedizin 2013 Gastrointestinal Medicine and Surgery, 2013. **29**: p. 7-13.
12. Herwig, R., et al., *Early identification of peritonitis by peritoneal cytokine measurement*. Dis Colon Rectum, 2002. **45**(4): p. 514-21.
13. Branagan, G., D. Finnis, and G. Wessex Colorectal Cancer Audit Working, *Prognosis after anastomotic leakage in colorectal surgery*. Dis Colon Rectum, 2005. **48**(5): p. 1021-6.
14. McArdle, C.S., D.C. McMillan, and D.J. Hole, *Impact of anastomotic leakage on long-term survival of patients undergoing curative resection for colorectal cancer*. Br J Surg, 2005. **92**(9): p. 1150-4.
15. Krarup, P.M., et al., *Anastomotic leak increases distant recurrence and long-term mortality after curative resection for colonic cancer: a nationwide cohort study*. Ann Surg, 2014. **259**(5): p. 930-8.
16. Fujita, S., et al., *Anastomotic leakage after colorectal cancer surgery: a risk factor for recurrence and poor prognosis*. Jpn J Clin Oncol, 1993. **23**(5): p. 299-302.
17. Wang, S., et al., *Adverse Effects of Anastomotic Leakage on Local Recurrence and Survival After Curative Anterior Resection for Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis*. World J Surg, 2017. **41**(1): p. 277-284.
18. Mirnezami, A., et al., *Increased local recurrence and reduced survival from colorectal cancer following anastomotic leak: systematic review and meta-analysis*. Ann Surg, 2011. **253**(5): p. 890-9.
19. Petersen, S., et al., *Anastomotic leakage: impact on local recurrence and survival in surgery of colorectal cancer*. Int J Colorectal Dis, 1998. **13**(4): p. 160-3.
20. Blumetti, J. and H. Abcarian, *Management of low colorectal anastomotic leak: Preserving the anastomosis*. World J Gastrointest Surg, 2015. **7**(12): p. 378-83.
21. Laroche, M. and G. Harding, *Primary and secondary peritonitis: an update*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 1998. **17**(8): p. 542-50.

22. Mosdell, D.M., et al., *Antibiotic treatment for surgical peritonitis*. Ann Surg, 1991. **214**(5): p. 543-9.
23. Thomas, M.S. and D.A. Margolin, *Management of Colorectal Anastomotic Leak*. Clin Colon Rectal Surg, 2016. **29**(2): p. 138-44.
24. Blumetti, J., et al., *Surgical site infections after colorectal surgery: do risk factors vary depending on the type of infection considered?* Surgery, 2007. **142**(5): p. 704-11.
25. Papaconstantinou, H.T., et al., *A Novel Wound Retractor Combining Continuous Irrigation and Barrier Protection Reduces Incisional Contamination in Colorectal Surgery*. World J Surg, 2018.
26. Smith, R.L., et al., *Wound infection after elective colorectal resection*. Ann Surg, 2004. **239**(5): p. 599-605; discussion 605-7.
27. Astagneau, P., et al., *Morbidity and mortality associated with surgical site infections: results from the 1997-1999 INCISO surveillance*. J Hosp Infect, 2001. **48**(4): p. 267-74.
28. Arnholdt, H., *Bauchchirurgie- Operationslehre mit topographischer Anatomie*. 1998: Schattauer Verlag.
29. Peel, A.L. and E.W. Taylor, *Proposed definitions for the audit of postoperative infection: a discussion paper*. Surgical Infection Study Group. Ann R Coll Surg Engl, 1991. **73**(6): p. 385-8.
30. Daams, F., et al., *Prediction and diagnosis of colorectal anastomotic leakage: A systematic review of literature*. World J Gastrointest Surg, 2014. **6**(2): p. 14-26.
31. Paun, B.C., et al., *Postoperative complications following surgery for rectal cancer*. Ann Surg, 2010. **251**(5): p. 807-18.
32. Krarup, P.M., et al., *Management of anastomotic leakage in a nationwide cohort of colonic cancer patients*. J Am Coll Surg, 2014. **218**(5): p. 940-9.
33. Fielding, L.P., et al., *Anastomotic integrity after operations for large-bowel cancer: a multicentre study*. Br Med J, 1980. **281**(6237): p. 411-4.
34. Walker, K.G., et al., *Anastomotic leakage is predictive of diminished survival after potentially curative resection for colorectal cancer*. Ann Surg, 2004. **240**(2): p. 255-9.
35. Kube, R., et al., *Anastomotic leakage after colon cancer surgery: a predictor of significant morbidity and hospital mortality, and diminished tumour-free survival*. Eur J Surg Oncol, 2010. **36**(2): p. 120-4.
36. Manilich, E., et al., *Key factors associated with postoperative complications in patients undergoing colorectal surgery*. Dis Colon Rectum, 2013. **56**(1): p. 64-71.
37. Krarup, P.M., et al., *A nationwide study on anastomotic leakage after colonic cancer surgery*. Colorectal Dis, 2012. **14**(10): p. e661-7.
38. Bakker, I.S., et al., *Risk factors for anastomotic leakage and leak-related mortality after colonic cancer surgery in a nationwide audit*. Br J Surg, 2014. **101**(4): p. 424-32; discussion 432.
39. Daams, F., M. Luyer, and J.F. Lange, *Colorectal anastomotic leakage: aspects of prevention, detection and treatment*. World J Gastroenterol, 2013. **19**(15): p. 2293-7.
40. Akiyoshi, T., et al., *Factors affecting the difficulty of laparoscopic total mesorectal excision with double stapling technique anastomosis for low rectal cancer*. Surgery, 2009. **146**(3): p. 483-9.
41. David W. Dietz, M., et al., *Complications in Colorectal Surgery* American Society of Colon & Rectal Surgeons, 2011.
42. Kirchhoff, P., P.A. Clavien, and D. Hahnloser, *Complications in colorectal surgery: risk factors and preventive strategies*. Patient Saf Surg, 2010. **4**(1): p. 5.
43. Alves, A., et al., *Factors associated with clinically significant anastomotic leakage after large bowel resection: multivariate analysis of 707 patients*. World J Surg, 2002. **26**(4): p. 499-502.

44. Shogan, B.D., et al., *Do we really know why colorectal anastomoses leak?* J Gastrointest Surg, 2013. **17**(9): p. 1698-707.
45. Nesbakken, A., et al., *Audit of intraoperative and early postoperative complications after introduction of mesorectal excision for rectal cancer.* Eur J Surg, 2002. **168**(4): p. 229-35.
46. Ondrula, D.P., et al., *Multifactorial index of preoperative risk factors in colon resections.* Dis Colon Rectum, 1992. **35**(2): p. 117-22.
47. Calin, M.D., et al., *Colic anastomotic leakage risk factors.* J Med Life, 2013. **6**(4): p. 420-3.
48. Fujita, F., et al., *The risk factors and predictive factors for anastomotic leakage after resection for colorectal cancer: reappraisal of the literature.* Surg Today, 2013.
49. Tang, R., et al., *Risk factors for surgical site infection after elective resection of the colon and rectum: a single-center prospective study of 2,809 consecutive patients.* Ann Surg, 2001. **234**(2): p. 181-9.
50. Docherty, J.G., et al., *Comparison of manually constructed and stapled anastomoses in colorectal surgery. West of Scotland and Highland Anastomosis Study Group.* Ann Surg, 1995. **221**(2): p. 176-84.
51. Su'a, B.U., et al., *Systematic review of the role of biomarkers in diagnosing anastomotic leakage following colorectal surgery.* Br J Surg, 2017. **104**(5): p. 503-512.
52. Facy, O., et al., *Diagnostic Accuracy of Inflammatory Markers As Early Predictors of Infection After Elective Colorectal Surgery: Results From the IMACORS Study.* Ann Surg, 2016. **263**(5): p. 961-6.
53. Weidenhagen, R., et al., *Endoscopic vacuum-assisted closure of anastomotic leakage following anterior resection of the rectum: a new method.* Surg Endosc, 2008. **22**(8): p. 1818-25.
54. Pera, M., et al., *The management of leaking rectal anastomoses by minimally invasive techniques.* Surg Endosc, 2002. **16**(4): p. 603-6.
55. Dörner, K., *Klinische Chemie und Hämatologie*, ed. G.T. Verlag. Vol. 7. 2009.
56. Verkkala, K., et al., *Fever, leucocytosis and C-reactive protein after open-heart surgery and their value in the diagnosis of postoperative infections.* Thorac Cardiovasc Surg, 1987. **35**(2): p. 78-82.
57. Tillett, W.S. and T. Francis, *Serological Reactions in Pneumonia with a Non-Protein Somatic Fraction of Pneumococcus.* J Exp Med, 1930. **52**(4): p. 561-71.
58. Mold, C., H. Gewurz, and T.W. Du Clos, *Regulation of complement activation by C-reactive protein.* Immunopharmacology, 1999. **42**(1-3): p. 23-30.
59. Pepys, M.B. and G.M. Hirschfield, *C-reactive protein: a critical update.* J Clin Invest, 2003. **111**(12): p. 1805-12.
60. Gabay, C. and I. Kushner, *Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation.* N Engl J Med, 1999. **340**(6): p. 448-54.
61. Clyne, B. and J.S. Olshaker, *The C-reactive protein.* J Emerg Med, 1999. **17**(6): p. 1019-25.
62. Whicher, J., J. Bienvenu, and G. Monneret, *Procalcitonin as an acute phase marker.* Ann Clin Biochem, 2001. **38**(Pt 5): p. 483-93.
63. Assicot, M., et al., *High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection.* Lancet, 1993. **341**(8844): p. 515-8.
64. Simon, L., et al., *Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis.* Clin Infect Dis, 2004. **39**(2): p. 206-17.

65. Garcia-Granero, A., et al., *Procalcitonin and C-reactive protein as early predictors of anastomotic leak in colorectal surgery: a prospective observational study*. Dis Colon Rectum, 2013. **56**(4): p. 475-83.
66. Reith, H.B., et al., *Procalcitonin in early detection of postoperative complications*. Dig Surg, 1998. **15**(3): p. 260-5.
67. Katan, M. and M. Christ-Crain, *The stress hormone copeptin: a new prognostic biomarker in acute illness*. Swiss Med Wkly, 2010. **140**: p. w13101.
68. Oberhoffer, M., et al., *Procalcitonin expression in human peripheral blood mononuclear cells and its modulation by lipopolysaccharides and sepsis-related cytokines in vitro*. J Lab Clin Med, 1999. **134**(1): p. 49-55.
69. Faix, J.D., *Biomarkers of sepsis*. Crit Rev Clin Lab Sci, 2013. **50**(1): p. 23-36.
70. Uzzan, B., et al., *Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis in critically ill adults and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis*. Crit Care Med, 2006. **34**(7): p. 1996-2003.
71. Yu, Z., et al., *The accuracy of the procalcitonin test for the diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis*. Scand J Infect Dis, 2010. **42**(10): p. 723-33.
72. Brown, J.H., et al., *Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1*. Nature, 1993. **364**(6432): p. 33-9.
73. Winkler, M.S., et al., *Human leucocyte antigen (HLA-DR) gene expression is reduced in sepsis and correlates with impaired TNFalpha response: A diagnostic tool for immunosuppression?* PLoS One, 2017. **12**(8): p. e0182427.
74. Gouel-Cheron, A., et al., *Early interleukin-6 and slope of monocyte human leukocyte antigen-DR: a powerful association to predict the development of sepsis after major trauma*. PLoS One, 2012. **7**(3): p. e33095.
75. Docke, W.D., et al., *Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment*. Nat Med, 1997. **3**(6): p. 678-81.
76. Docke, W.D., et al., *Monitoring temporary immunodepression by flow cytometric measurement of monocytic HLA-DR expression: a multicenter standardized study*. Clin Chem, 2005. **51**(12): p. 2341-7.
77. Hirano, T., *Interleukin 6 and its receptor: ten years later*. Int Rev Immunol, 1998. **16**(3-4): p. 249-84.
78. Rincon, M., *Interleukin-6: from an inflammatory marker to a target for inflammatory diseases*. Trends Immunol, 2012. **33**(11): p. 571-7.
79. Kumari, N., et al., *Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance*. Tumour Biol, 2016. **37**(9): p. 11553-11572.
80. Guthrie, G.J., et al., *Does interleukin-6 link explain the link between tumour necrosis, local and systemic inflammatory responses and outcome in patients with colorectal cancer?* Cancer Treat Rev, 2013. **39**(1): p. 89-96.
81. Pfeiffer, R., *Untersuchungen über das Cholera Gift*. Z. Hyg. Infektionskr., 1892. **11**: p. 393-412.
82. Hamesch, K., et al., *Lipopolysaccharide-induced inflammatory liver injury in mice*. Lab Anim, 2015. **49**(1 Suppl): p. 37-46.
83. Buttenschoen, K., P. Radermacher, and H. Bracht, *Endotoxin elimination in sepsis: physiology and therapeutic application*. Langenbecks Arch Surg, 2010. **395**(6): p. 597-605.
84. Opal, S.M., et al., *Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock*. J Infect Dis, 1999. **180**(5): p. 1584-9.
85. Danner, R.L., et al., *Endotoxemia in human septic shock*. Chest, 1991. **99**(1): p. 169-75.
86. Braude, A.I., *Bacterial Endotoxins*. Sci Am, 1964. **210**: p. 36-45.

87. Herbert, P.C. and S. Szick, *The anemic patient in the ICU: How much does the heart tolerate?* Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2001. **36 Suppl 2**: p. S94-100.
88. Balk, R.A., *Endotoxemia in critically ill patients: why a reliable test could be beneficial.* Crit Care, 2002. **6(4)**: p. 289-90.
89. Romaschin, A.D., et al., *A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence.* J Immunol Methods, 1998. **212(2)**: p. 169-85.
90. Foster, D.D., A.; Romaschin, A., *A novel method for the rapid detection of human endotoxaemia.* Clinical Laboratory International, 2004.
91. Incorporated, S.D., *Endotoxin Activity Assay™ (EAA™), in Zur Bestimmung der Endotoxinaktivität in humanen Vollblut.*
92. Zou, K.H., A.J. O'Malley, and L. Mauri, *Receiver-operating characteristic analysis for evaluating diagnostic tests and predictive models.* Circulation, 2007. **115(5)**: p. 654-7.
93. Bautsch, W., *Requirements and assessment of laboratory tests: Part 5 of a series on evaluation of scientific publications.* Dtsch Arztebl Int, 2009. **106(24)**: p. 403-6.
94. Ruopp, M.D., et al., *Youden Index and optimal cut-point estimated from observations affected by a lower limit of detection.* Biom J, 2008. **50(3)**: p. 419-30.
95. Weiß, C., *Basiswissen Medizinische Statistik Vol. 5.* 2010: Springer Medizin Verlag Heidelberg.
96. Hosmer, D.W., *Applied logistic regression Vol. 2.* 2000: John Wiley & Sons.
97. Schisterman, E.F., et al., *Optimal cut-point and its corresponding Youden Index to discriminate individuals using pooled blood samples.* Epidemiology, 2005. **16(1)**: p. 73-81.
98. Volk, H.D., Reincke, P., Ruppe, U., *Diagnostic value of an immune monitoring program for the clinical management of immunosuppressed patients with septic complications.* Clinical Transplantation, 1989. **3**: p. 246 - 252.
99. Karliczek, A., et al., *Surgeons lack predictive accuracy for anastomotic leakage in gastrointestinal surgery.* Int J Colorectal Dis, 2009. **24(5)**: p. 569-76.
100. Hirst, N.A., et al., *Systematic review of methods to predict and detect anastomotic leakage in colorectal surgery.* Colorectal Dis, 2014. **16(2)**: p. 95-109.
101. Nesbakken, A., et al., *Anastomotic leak following mesorectal excision for rectal cancer: true incidence and diagnostic challenges.* Colorectal Dis, 2005. **7(6)**: p. 576-81.
102. Korner, H., et al., *Diagnostic accuracy of C-reactive protein for intraabdominal infections after colorectal resections.* J Gastrointest Surg, 2009. **13(9)**: p. 1599-606.
103. Ortega-Deballon, P., et al., *C-reactive protein is an early predictor of septic complications after elective colorectal surgery.* World J Surg, 2010. **34(4)**: p. 808-14.
104. Silvestre, J., et al., *Diagnostic accuracy of C-reactive protein and procalcitonin in the early detection of infection after elective colorectal surgery - a pilot study.* BMC Infect Dis, 2014. **14**: p. 444.
105. Oberhofer, D., et al., *Comparison of C-reactive protein and procalcitonin as predictors of postoperative infectious complications after elective colorectal surgery.* Croat Med J, 2012. **53(6)**: p. 612-9.
106. Ellebaek, M.B., et al., *Cytokine response in peripheral blood indicates different pathophysiological mechanisms behind anastomotic leakage after low anterior resection: a pilot study.* Tech Coloproctol, 2014. **18(11)**: p. 1067-74.
107. Alonso, S., et al., *Postoperative intra-abdominal infection and colorectal cancer recurrence: a prospective matched cohort study of inflammatory and angiogenic*

- responses as mechanisms involved in this association.* Eur J Surg Oncol, 2015. **41**(2): p. 208-14.
108. Strohmeyer, J.C., et al., *Standardized immune monitoring for the prediction of infections after cardiopulmonary bypass surgery in risk patients.* Cytometry B Clin Cytom, 2003. **53**(1): p. 54-62.
109. Asadullah, K., et al., *Very low monocytic HLA-DR expression indicates high risk of infection--immunomonitoring for patients after neurosurgery and patients during high dose steroid therapy.* Eur J Emerg Med, 1995. **2**(4): p. 184-90.
110. Miholic, J., et al., *Fever, leucocytosis and infection after open heart surgery. A log-linear regression analysis of 115 cases.* Thorac Cardiovasc Surg, 1984. **32**(1): p. 45-8.
111. Warschkow, R., et al., *Diagnostic accuracy of C-reactive protein and white blood cell counts in the early detection of inflammatory complications after open resection of colorectal cancer: a retrospective study of 1,187 patients.* Int J Colorectal Dis, 2012. **27**(10): p. 1377.
112. Singh, P.P., et al., *Systematic review and meta-analysis of use of serum C-reactive protein levels to predict anastomotic leak after colorectal surgery.* Br J Surg, 2014. **101**(4): p. 339-46.
113. Warschkow, R., et al., *Diagnostic study and meta-analysis of C-reactive protein as a predictor of postoperative inflammatory complications after gastroesophageal cancer surgery.* Langenbecks Arch Surg, 2012. **397**(5): p. 727-36.
114. Bianchi, R.A., et al., *Utility of base deficit, lactic acid, microalbuminuria, and C-reactive protein in the early detection of complications in the immediate postoperative evolution.* Clin Biochem, 2004. **37**(5): p. 404-7.
115. Welsch, T., et al., *C-reactive protein as early predictor for infectious postoperative complications in rectal surgery.* Int J Colorectal Dis, 2007. **22**(12): p. 1499-507.
116. Warschkow, R., et al., *Safe and early discharge after colorectal surgery due to C-reactive protein: a diagnostic meta-analysis of 1832 patients.* Ann Surg, 2012. **256**(2): p. 245-50.
117. Kingham, T.P. and H.L. Pachter, *Colonic anastomotic leak: risk factors, diagnosis, and treatment.* J Am Coll Surg, 2009. **208**(2): p. 269-78.
118. Kolfshoten, N.E., et al., *Nonelective colon cancer resections in elderly patients: results from the dutch surgical colorectal audit.* Dig Surg, 2012. **29**(5): p. 412-9.
119. Lagoutte, N., et al., *C-reactive protein and procalcitonin for the early detection of anastomotic leakage after elective colorectal surgery: pilot study in 100 patients.* J Visc Surg, 2012. **149**(5): p. e345-9.
120. Yamamoto, S., et al., *A comparison of the complication rates between laparoscopic colectomy and laparoscopic low anterior resection.* Surg Endosc, 2004. **18**(10): p. 1447-51.
121. Chromik, A.M., et al., *Pre-emptive antibiotic treatment vs 'standard' treatment in patients with elevated serum procalcitonin levels after elective colorectal surgery: a prospective randomised pilot study.* Langenbecks Arch Surg, 2006. **391**(3): p. 187-94.
122. Jebali, M.A., et al., *Assessment of the accuracy of procalcitonin to diagnose postoperative infection after cardiac surgery.* Anesthesiology, 2007. **107**(2): p. 232-8.
123. Falcoz, P.E., et al., *Usefulness of procalcitonin in the early detection of infection after thoracic surgery.* Eur J Cardiothorac Surg, 2005. **27**(6): p. 1074-8.
124. Hunziker, S., et al., *The value of serum procalcitonin level for differentiation of infectious from noninfectious causes of fever after orthopaedic surgery.* J Bone Joint Surg Am, 2010. **92**(1): p. 138-48.
125. Zawadzki, M., et al., *C-reactive protein and procalcitonin predict anastomotic leaks following colorectal cancer resections - a prospective study.* Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne, 2016. **10**(4): p. 567-73.

126. Platell, C., et al., *The incidence of anastomotic leaks in patients undergoing colorectal surgery*. *Colorectal Dis*, 2007. **9**(1): p. 71-9.
127. Slotwinski, R., et al., *The soluble tumor necrosis factor receptor I is an early predictor of local infective complications after colorectal surgery*. *J Clin Immunol*, 2002. **22**(5): p. 289-96.
128. Baigrie, R.J., et al., *Systemic cytokine response after major surgery*. *Br J Surg*, 1992. **79**(8): p. 757-60.
129. van der Poll, T., *Immunotherapy of sepsis*. *Lancet Infect Dis*, 2001. **1**(3): p. 165-74.
130. Butt, I. and B.M. Shrestha, *Two-hit hypothesis and multiple organ dysfunction syndrome*. *JNMA J Nepal Med Assoc*, 2008. **47**(170): p. 82-5.
131. Wakefield, C.H., et al., *Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery*. *Br J Surg*, 1993. **80**(2): p. 205-9.
132. Marshall, J.C., et al., *Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study*. *J Infect Dis*, 2004. **190**(3): p. 527-34.
133. Hurley, J.C., et al., *Endotoxemia and mortality prediction in ICU and other settings: underlying risk and co-detection of gram negative bacteremia are confounders*. *Crit Care*, 2012. **16**(4): p. R148.
134. Wagner, F., *Immunmonitoring bei Sepsis*. *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie*, 2003. **17**: p. 185-190.
135. *Preise (Vollkosten) im Rahmen der internen Leistungsverrechnung des Instituts für Klinische Chemie, LMU München, K.d.U.M. Institut für Laboratoriumsmedizin, Editor*. 2014.
136. Yun, J.A., et al., *Clinical manifestations and risk factors of anastomotic leakage after low anterior resection for rectal cancer*. *ANZ J Surg*, 2015.
137. Bruce, J., et al., *Systematic review of the definition and measurement of anastomotic leak after gastrointestinal surgery*. *Br J Surg*, 2001. **88**(9): p. 1157-68.
138. Gingold, B.S. and D.G. Jagelman, *Value of pelvic suction-irrigation in reducing morbidity of low anterior resection of the rectum--a ten-year experience*. *Surgery*, 1982. **91**(4): p. 394-8.
139. Grommes, J., et al., *Balancing zinc deficiency leads to an improved healing of colon anastomosis in rats*. *Int J Colorectal Dis*, 2011. **26**(3): p. 295-301.
140. Singh, P.P., et al., *Perioperative use of statins in elective colectomy*. *Dis Colon Rectum*, 2012. **55**(2): p. 205-10.
141. Zargar-Shoshtari, K., et al., *Randomized clinical trial of the effect of glucocorticoids on peritoneal inflammation and postoperative recovery after colectomy*. *Br J Surg*, 2009. **96**(11): p. 1253-61.
142. Chuang, D., et al., *Differential production of cytokines following colorectal surgery*. *ANZ J Surg*, 2006. **76**(9): p. 821-4.
143. Tsimogiannis, K.E., et al., *Alpha-defensin expression of inflammatory response in open and laparoscopic colectomy for colorectal cancer*. *World J Surg*, 2011. **35**(8): p. 1911-7.
144. Tsamis, D., et al., *Systemic inflammatory response after laparoscopic and conventional colectomy for cancer: a matched case-control study*. *Surg Endosc*, 2012. **26**(5): p. 1436-43.

9. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AI	Anastomoseninsuffizienz
AMG	Arzneimittelgesetz
ASA	<i>American Society of Anesthesiologists</i>
AUC	<i>Area under the curve</i>
Ave	<i>Average</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CCI	Charlson-Komorbiditätsindex
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CV	<i>Coefficient of variation</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EAA®	<i>Endotoxin-Activity-Assay</i>
FACS	<i>Fluorescence Activated Cell Sorting</i>
FDA	<i>(United States) Food and Drug Administration</i>
FSC	<i>Forward Scatter</i>
GP	Glykoprotein
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
IgM	Immunglobulin M
IASC	Intraabdominale septische Komplikation
kDA	Kilodalton
LBP	Lipopolysaccharid-bindendes Protein
LDH	Lactatdehydrogenase
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität

Abkürzungsverzeichnis

LPS	Lipopolysaccharid
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MPG	Medizinproduktegesetz
NET	Neuroendokriner Tumor
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PBS	Phosphate buffered saline
RLU	<i>Relative Light Units</i>
SIRS	<i>Systemic inflammatory response syndrome</i>
SSC	<i>Side Scatter</i>
SSI	<i>Surgical Site Infection</i>
TGF	Transforming growth factor
Th1	Typ1-T-Helferzelle (Th1-Lymphozyt)
Th2	Typ2-T-Helferzelle (Th2-Lymphozyt)
TNF	Tumornekrosefaktor
TNM	Tumor, Nodes, Metastasis
°C	Grad Celsius

10. DANKSAGUNG

Ich möchte mich bei all denen bedanken, die mir die Möglichkeit gegeben haben, diese Arbeit umzusetzen und zu verfassen.

Zunächst möchte ich Prof. Eugen Faist dafür danken, dass ich in seiner Arbeitsgruppe mitarbeiten durfte, er mich in der Umsetzung meiner Ideen unterstützt hat und die Finanzierung meiner Forschungsarbeit ermöglicht hat.

Ein besonderer Dank gilt Priv.-Doz. Dr. med. Tobias Schiergens, ohne den es die Doktorarbeit in dieser Form nicht geben würde. Er ist mir stets mit seinem fachlichen Rat zur Seite gestanden und hat mir selbstlos durch die schwierigen Phasen der Promotion geholfen. Herzlichen Dank für dein Engagement.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Dr. hum. biol. Cornelia Limbach, die mich in die Labormethodik eingeführt und mir bei der Durchführung der Experimente unter die Arme gegriffen hat.

Mein weiterer Dank geht an Dr. med. Alexander Frank und Dr. med. Sven Schallhorn für das immer gute Klima im Labor, die gegenseitige Unterstützung und die Freundschaft, die durch die gemeinsame Forschungszeit entstanden ist. Mein Dank gebührt auch Frau Silvia Marth, der „guten Seele“ unserer Arbeitsgruppe, die ein offenes Ohr für all unsere Belange hatte und sich stets für unsere Interessen eingesetzt hat.

Vielen Dank auch an Prof. Markus Rentsch für das Korrekturlesen und die Überarbeitung meiner Arbeit.

Natürlich möchte ich mich auch bei meinen Eltern herzlich bedanken, die mir mein Studium und die Promotion bedenkenlos ermöglicht und immer an mich geglaubt haben. Meiner Schwester Sabrina danke ich dafür, dass sie mich stets unterstützt und motiviert hat.

11. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich, Alena Sint, erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Früherkennung infektiöser Komplikationen nach kolorektalen Eingriffen durch die perioperative Anwendung eines multidimensionalen immunoinflammatorischen Monitoringsystems“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 16.05.2018

Alena Sint

Unterschrift Doktorand