
Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. Jens Werner



**Perioperatives immunoinflammatorisches Monitoring von Patienten mit
terminaler Niereninsuffizienz und Nierentransplantation**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades

der Humanmedizin an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dustin van Delden

aus

Rio de Janeiro

2023

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. med. Joachim Andrassy

Mitberichterstatter:

apl. Prof. Dr. med. Christoph Trumm

Dekan:

Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung:

16. März 2023

Inhaltsverzeichnis

I.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	5
II.	TABELLENVERZEICHNIS	7
III.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Die dialysepflichtige terminale Niereninsuffizienz	1
1.2.	Endotoxin	3
1.3.	Immunologische Reaktionen auf eine Endotoxinämie	5
1.4.	Nierentransplantation	7
1.5.	Endotoxinämie bei ESRD und Nierentransplantationspatienten	8
1.6.	Endotoxin Activity Assay (EAA)	10
1.7.	Studienfrage: Kann das perioperative immunoinflammatorische Monitoring von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz bei einer Nierentransplantation einen prognostischen Nutzen haben?.....	11
2.	METHODEN	13
2.1.	Immunomonitoring bei Dialyse-Patienten.....	13
2.2.	Immunomonitoring bei Transplantations-Patienten.....	14
2.3.	Endotoxin Activity Assay™	15
2.4.	Durchflusszytometrie	18
2.5.	Klinische Labor-Parameter.....	21
2.6.	Inflammatorische Parameter.....	21
2.7.	Gruppeneinteilung für klinischen Vergleich	22
2.8.	Datenerhebung und statistische Analyse.....	23

3. MATERIAL	24
3.1. Material- und Geräteliste	24
4. ERGEBNISSE	26
4.1. Studienarm A: Immunomonitoring bei Dialyse-Patienten	26
4.2. Studienarm B: Immunomonitoring bei Nierentransplantations-Patienten	30
4.3. Vergleich beider Studiengruppen	51
5. DISKUSSION	53
5.1. Teilstudie A: Endotoxin-Aktivität bei Dialyse-Patienten	54
5.2. Teilstudie B: Perioperative Messung der Endotoxin-Aktivität von Nieren-Transplantations-Patienten 55	
6. ZUSAMMENFASSUNG	61
7. ERKLÄRUNG AN EIDES STATT	62
8. ANHANG	63
9. LITERATURVERZEICHNIS	65

I. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Gerundete prozentuale Verteilung der renalen Grunderkrankungen bei ständig hämodialysierten Patienten in Deutschland. (Potthoff et al. 2015)	1
Abbildung 2: Chemische Struktur von Lipopolysacchariden (Heine et al. 2001))	4
Abbildung 3: Intrazelluläre Signal-Transduktion nach Endotoxin-Kontakt. Abbildung aus (Cohen 2002).	6
Abbildung 4: Blutabnahme-Schema der Dialysepatienten	13
Abbildung 5: Blutabnahme-Schema der Nieren-Transplantations-Patienten	14
Abbildung 6: Ablauf des EAA TM nach Firmen-Instruktionen. Eigene Darstellung.	16
Abbildung 7: Vorbereitung der BD Falcon Tubes [®] mit Antikörpern für die Durchflusszytometrie. Eigene Darstellung	18
Abbildung 8: Schematischer Aufbau der optischen Messeinheit einer Durchflusszytometers. (Schematic diagram of a flow cytometer 2016)	19
Abbildung 9: Darstellung der Emissions-Maxima der verwendeten Fluoreszenz-Farbstoffe. In der Abbildung ist BD Horizon PE-CF594 dem PE Texas Red [®] in etwa gleichzusetzen. Abbildung aus (BD BioSciences 2015).	20
Abbildung 10: Renale Grunderkrankungen der Dialyse-Patienten.	26
Abbildung 11: Verteilung der EAA-Werte der Dialyse-Patienten vor und nach einer regulär durchgeführten Dialysesitzung.	28
Abbildung 12: Renale Grunderkrankungen der Transplantations-Patienten.	30
Abbildung 13: Verteilung der EAA-Werte zwischen Low Risk Gruppe A (links) und High Risk Gruppe B. p<0,0001.....	34
Abbildung 14: EAA-Mittelwerte nach Low (grün) und High Risk Gruppe (rot) aufgeteilt über den zeitlichen Verlauf in der perioperativen Phase. p<0,00001.....	35
Abbildung 15: Präoperativer EAA-Wert von Low (grün) und High Risk Gruppe (Rot). p=0,03	36

Abbildung 16: Entwicklung der täglichen Ausscheidungsmenge in Liter pro Tag zwischen der Low Risk und der High Risk Gruppe im Verlauf der stationären Behandlung, $p < 0,0001$	37
Abbildung 17: Kaliumwert im perioperativen Verlauf zwischen High und Low Risk Gruppe, $p < 0,00001$	37
Abbildung 18: Kreatininwert im perioperativen Verlauf zwischen High und Low Risk Gruppe, $p < 0,00001$	38
Abbildung 19: Entwicklung der Harnstoffwerte im perioperativen Verlauf der High Risk im Vergleich zu Low Risk Gruppe, $p < 0,00001$	39
Abbildung 20: Perioperativer Verlauf der Leukozyten zwischen Low und High Risk Gruppe, $p < 0,00001$	40
Abbildung 21: CRP-Wert im perioperativen Verlauf zwischen Low und High Risk Gruppe unterschieden, $p < 0,00001$	41
Abbildung 22: Procalcitonin-Wert im perioperativen Verlauf zwischen Low und High Risk Gruppe unterschieden, $p = 0,963$	42
Abbildung 23: IL-6 – Wert im perioperativen Verlauf zwischen Low und High Risk Gruppe unterschieden. Die Skala ist logarithmisch angegeben, $p = 0,105$	43

II. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle: 1: Übersicht über die spektralen Eigenschaften der verwendeten Fluoreszenz-Farbstoffe. (BD BioSciences 2015)	20
Tabelle: 2: Deskriptive Statistik der Patienten der Dialyse Teilstudie. Der CIRS-S.....	27
Tabelle: 3: Einteilung der Transplantations-Patienten in EAA-Bereiche.....	31
Tabelle: 4: Patienten-Charakteristika der Studien-Patienten nach EAA-Gruppen A und B aufgeteilt..	32
Tabelle: 5: Zusammenfassung des klinischen perioperativen Verlaufs der Studienpatienten.....	33
Tabelle: 6: Bivariate Korrelation der EAA-Werte mit Patienten Vitalwerten und klinischen & experimentellen Laborwerten.....	45
Tabelle: 7: Übersicht über die p-Werte bei der linearen Regressions-Analyse mit den EAA-Wert.	46
Tabelle: 8: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Revisions-OP“	48
Tabelle: 9: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Nieren-Biopsie“	49
Tabelle: 10: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis / Episode einer „Transplantat-Abstoßung“	49
Tabelle: 11: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Transplantat-Versagen“	50
Tabelle: 12: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Transplantat-Explantation“	51
Tabelle: 13: Übersicht über Patienten-Charakteristika beider Studienarme.....	52

III. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

CD	Cluster of Differentiation
CIRS-Score	Critical Illness Rating Scale
CKD/CRD	Chronic Kidney / Renal Disease
CR	Complement Receptor
CRF	Case Report File
CV	Co-efficient of Variation
EA	Endotoxin Aktivität
EAA	Endotoxin Activity Assay
ESRD	End Stage Renal Disease = Terminale Niereninsuffizienz
FACS®	Fluorescence Activated Cell Sorting
HUS	Hämolytisch-Urämisches-Syndrom
IL-6	Interleukin-6
LAL	Limulus Amoebocyte Lysate
LPS	Lipopolysaccharide
NFκB	Nukleärer Faktor κ B
TLR-4	Toll-Like-Rezeptor 4
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor α

1. EINLEITUNG

1.1. Die dialysepflichtige terminale Niereninsuffizienz

1.1.1. Epidemiologie der ESRD in Deutschland

Sowohl die chronische Niereninsuffizienz (Chronic Kidney Disease, CKD) als auch die dialysepflichtige terminale Niereninsuffizienz (End Stage Renal Disease, ESRD) erfahren seit Jahrzehnten eine welt- und deutschlandweit steigende Prävalenz. So hat sich im internationalen Maßstab die Anzahl der Patienten mit einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz seit 1990 mehr als verdoppelt und verzeichnet weiterhin Zuwachsraten von über 6% pro Jahr (Frei und Schober-Halstenberg 2008). In Deutschland werden aktuell etwa 85 000 Menschen in über 1200 Dialysezentren betreut. Dabei nimmt die ständige ambulant durchgeführte Hämodialyse mit etwa 85% die häufigste Behandlungsform dieser chronischen Erkrankung ein. Aufgrund der sich weiter verändernden Bevölkerungsstruktur in Deutschland ist von weiter steigenden Patientenzahlen von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu rechnen (Potthoff und Münscher 2013).

Die terminale Niereninsuffizienz (ESRD) steht meist am Ende von sich über einen langen Zeitraum erstreckenden chronischen Grunderkrankungen. Hier zeigt die weitere Literaturanalyse, dass sich die Zusammensetzung der renalen Grunderkrankungen im Laufe der Jahre als sehr stabil erweist und nur

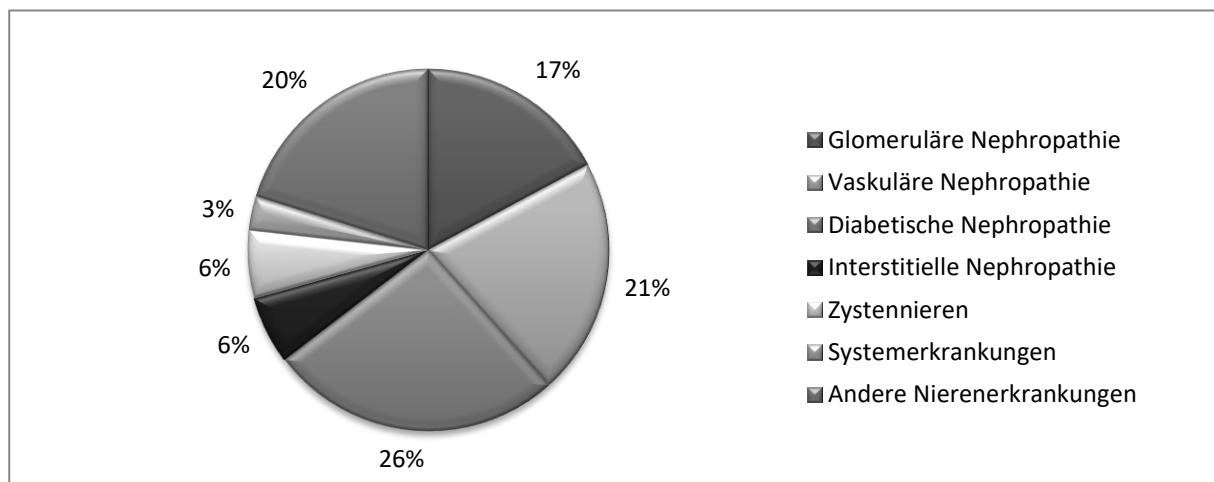


Abbildung 1: Gerundete prozentuale Verteilung der renalen Grunderkrankungen bei ständig hämodialysierten Patienten in Deutschland. (Potthoff et al. 2015)

geringe Schwankungen aufweist (Potthoff et al. 2015). Dialyse-Patienten weisen eine überdurchschnittliche hohe Rate an Komorbiditäten im Vergleich zur Normalbevölkerung auf, die zusammen mit den bereits hohen Grundkosten der chronischen Dialysebehandlung eine medizinische

und finanzielle Herausforderung für das Gesundheitssystem darstellen (Drabinski 2014; Potthoff et al. 2018).

1.1.2. Pathophysiologie der ESRD

Der (sub)totale Ausfall der glomerulären Filtrationsleistung, sowie der endokrinologischen Nierenfunktion bedingt eine deutlich erhöhte Morbidität und Mortalität dieser Patientengruppe im Vergleich zur Normalbevölkerung. So ist das altersadjustierte Risiko von Dialysepatienten an kardiovaskulären Ereignissen zu versterben fast neun-fach, an nicht-kardiovaskulären Ereignissen immer noch über acht-fach im Vergleich zur Normalbevölkerung erhöht (Jager et al. 2009). Etwa die Hälfte aller Dialysepatienten verstirbt an kardiovaskulären Ereignissen (Quereshi et al. 2002, Ron T Gansevoort et al. 2013) und mehrheitlich innerhalb von fünf Jahren nach Beginn der Hämodialyse, was einer schlechteren Prognose im Vergleich zu den meisten Krebserkrankungen entspricht (Weaver und Mitsnefes 2009; Stenvinkel 2006). Weitere 20% der Dialyse-Patienten versterben im Rahmen von bakteriellen Infektionen und nachfolgender Entwicklung einer Sepsis (Lemesch et al. 2016). Trotz stetiger Fortschritte in der Dialysetechnik bleibt die (kardiovaskuläre) Sterblichkeit dieses Kollektiv inakzeptabel hoch (Stenvinkel 2006).

Auf der Suche nach etablierten Risikofaktoren hierfür fallen zum einen die bestehenden Grunderkrankungen ins Gewicht, die sowohl oft zur Dialyse geführt haben – und sich währenddessen meist aggravierend – wie der Diabetes mellitus, Hypertonus, Tabakkonsum und Hyperlipidämie. Ebenso konnten dialysespezifische Ursachen, wie Urämie, Anämie, endotheliale Dysfunktion, Malnutrition, endokrinologische Veränderungen im Rahmen der Dialysepflichtigkeit, sowie oxidativer Stress ermittelt werden (Weaver und Mitsnefes 2009; Wanner et al. 2016).

1.1.3. Immunoentzündliche Reaktionen bei ESRD

In einem spezielleren Fokus sind bei dieser Betrachtung immunoentzündliche Reaktionen als treibender Faktor für die Entwicklung dieser Begleiterkrankungen und der schlechten Prognose gerückt. Bereits Patienten mit einer leichten oder beginnenden Einschränkung der Nierenfunktion weisen chronisch erhöhte Entzündungsparameter auf (Stenvinkel 2006). Bei Hämodialysepatienten konnte dieser Zustand der chronischen Entzündung in zahlreichen Untersuchungen sowohl nachgewiesen als auch als Risikofaktor für die Sterblichkeit stratifiziert werden (Goncalves et al. 2006; Carrero und Stenvinkel 2010).

Ursächlich für diesen Zustand wird u.a. eine verminderte Clearance proinflammatorischer Cytokine, oxidativer Stress, verminderte Blutlevel von Antioxidantien und schließlich auch eine chronische

Volumenüberladung gemacht (Kovesdy et al. 2012). Durch den Funktionsverlust der Nieren, den Salz- und Volumenhaushalt regulieren zu können, kommt es bereits in frühen Stadien der Niereninsuffizienz zu einer Wasserretention, Hypertonus und Urämie. Die Volumenüberladung führt zu einem mukosalem Ödem, sodass sich die Membranpermeabilität des Gastro-Intestinal-Traktes (GIT) verändert. Dadurch gelangt der im Körper in erhöhter Konzentration vorhandene Harnstoff vermehrt in die luminal Seite des GIT. Dort wird dieser von bakteriellen Ureasen zu Ammoniumhydroxid gespalten, das durch seine stark ätzende Wirkung die Barrierefunktion der Epithelien weiter behindert (Sabatino et al. 2014). Als Folge davon kommt es zu einer vermehrten Translokation von Makromolekülen von luminal nach basal - unter anderem auch von Endotoxinen, den integralen Membranbestandteilen gramnegativer Bakterien der Darmflora (Goncalves et al. 2006). Diese Endotoxinfragmente stimulieren Granulozyten und Monozyten sich in diesen Geweben anzusiedeln. Die dort erfolgende Zytokinfreisetzung durch diese Leukozyten bewirkt eine erhöhte Endocytoserate von transcellulären Tight Junction Proteinen, namentlich Claudinen und Occludinen, sodass sich eine sich selbst erhaltende chronische Inflammation ausbilden kann (Lau et al. 2015). Neben dieser als „Gut-Theory“ („gut“ = engl. Darm) bekannten Theorie werden auch (bakterielle) Verunreinigungen während der Dialyse als mögliche Endotoxinquelle vermutet (Suzuki et al. 2011). Als ein chemisch sehr stabiles Molekül überstehen LPS mühelos Sterilisationsprozesse bei der Herstellung sowohl von Dialyse-Equipment als auch der Dialysate selbst. Zwar wird durch die Herstellung von Endotoxin-freien Dialysaten versucht, diesem Umstand Rechnung zu tragen, jedoch verbleibt durch die Anwendung während der Dialyse ein Restrisiko der bakteriellen Kontamination (Lemesch et al. 2016). Zusätzlich bewirkt der großflächige Kontakt der Immunzellen mit den künstlichen Schlauch-Oberflächen eine gewisse Immunaktivierung, die in der Folge zu erhöhten Endotoxin-Konzentrationen bei Dialysepatienten führt (Su und Ding 2015). Unabhängig von der Quelle selbst, konnte letztlich die (erhöhte) Endotoxinämie als relevanter Trigger für einen chronisch inflammatorischen Zustand identifiziert werden (Wong et al. 2015).

1.2. Endotoxin

1.2.1. Chemische Struktur von Lipopolysacchariden (LPS)

Aufgrund langjähriger chemischer Analysen konnte die chemische Struktur und Eigenschaften von Endotoxinen, bzw. der proteinfreien Version als Lipopolysacchariden (LPS) genau entschlüsselt werden. LPS besitzt eine Größe von etwa 10.000 Dalton und setzen sich im Wesentlichen aus drei Hauptbestandteilen zusammen: Einem nach außen gewandten Anteil aus O-Polysacchariden, einer zweigeteilten Kern-Region, sowie dem innersten Bereich, auch als Lipid A bekannt.

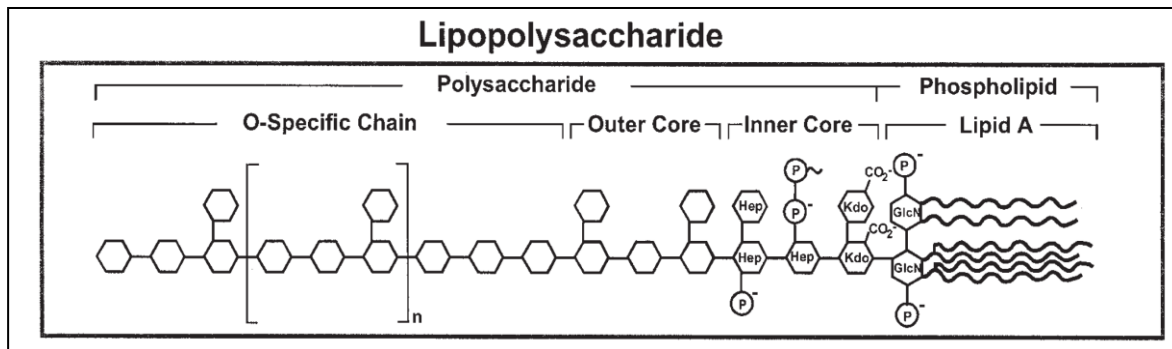


Abbildung 2: Chemische Struktur von Lipopolysacchariden (Heine et al. 2001)

Lipopolysaccharide sind elementarer Bestandteil der Außenseite der äußeren Zellmembran gram-negativer Bakterien mit einem Massenanteil von etwa 45%, die gleichzeitig zu etwa 75% das Bakterium nach außen hin abdecken. Die Phospholipide des Lipid A-Anteils dienen dabei als Anker, während der Polysaccharid-Anteil nach außen hin gerichtet ist (Caroff und Karibian 2003). Aufgrund ihrer chemischen Struktur bilden die LPS amphiphile Aggregate, die dadurch der äußeren Membran sowohl verbesserte chemische Stabilität verleihen als auch elementare Aufgaben für die Aufrechterhaltung der bakteriellen Homöostase erfüllen. So konnte z.B. gezeigt werden, dass LPS wichtige Funktionen in der inter-bakteriellen Kommunikation übernehmen und z.B. der Einbau von Aquaporinen durch die Anwesenheit von LPS wesentlich verbessert wird (Wiese et al. 1999).

Die O-Polysaccharidkette besteht aus bis zu 50 repetitiven Untereinheiten mit jeweils 2 - 8 unterschiedlichen Zuckermonomeren. Dieser Bereich besitzt eine hohe Variabilität in der Größe und Zusammensetzung der einzelnen Zuckerbausteine - bis hin zum völligen Fehlen - und ist praktisch für jede Bakterienart spezifisch konfiguriert (Munford 2016). Die aus einem inneren und äußeren Anteil gebildete Kernregion setzt sich im Wesentlichen aus Glucose- und Galaktose-Zuckern für den äußeren, sowie aus phosphorylierten Heptose-Zuckern für den inneren Anteil zusammen. Besonders der innere Anteil besteht aus sehr konservierten Strukturen, die eine Bildung von wirksamen Antikörpern ermöglichen. Bis zu sechs mit Glucosamin-Disacchariden phosphorylierten Fettsäuren ergeben schließlich den Lipid A-Anteil (Rensing 2003; Heine et al. 2001). Durch experimentelle Versuche mit reinem Lipid A konnten nachgewiesen werden, dass vornehmlich dieser Bereich für die von LPS hervorgerufenen immunologischen Reaktionen verantwortlich ist (Munford 2016).

1.2.2. Physiologie der Endotoxinämie

Endotoxine bilden aufgrund ihres ubiquitären Vorkommens als integrale Membran-Bestandteile gram-negativer Bakterien eine geeignete Angriffsfläche für das Immunsystem. Bereits Dosen ab nur $1 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ setzen eine starke Immunantwort des Körpers in Gang (Buttenschoen et al. 2010). In

physiologischen Mengen führt die Freisetzung von Endotoxinen im Rahmen der Abwehr von Infektionen mit gram-negativen Bakterien zu einer erhöhten Immunkompetenz und Reagibilität. Gesunden Probanden, denen Endotoxine injiziert werden, entwickeln innerhalb kürzester Zeit klinische Symptome einer Infektion, wie Fieber, Hypotonie und Tachykardie als auch laborchemische Zeichen einer Infektreaktion, wie Zytokinausschüttung, Leukozytose und eine Linksverschiebung (Heine et al. 2001). Werden im Rahmen von Infekten bzw. einer Entzündungsreaktion Endotoxine durch Phagozytose und Komplement-Reaktionen mit einer Lyse gram-negativer Bakterien frei, stellen diese immunologischen Reaktionen wirksame Abwehrmechanismen des Körpers dagegen dar. Die massive Freisetzung von Endotoxinen führt hingegen zu pathophysiologischen Reaktionen wie sie etwa im Rahmen von schwerer Sepsis, Schocksyndromen oder Multiorganversagen auftreten (Cohen 2002; Munford 2016).

1.3. Immunologische Reaktionen auf eine Endotoxinämie

Für die Erkennung und Eliminierung von freigesetzten LPS sind hauptsächlich die Monozyten und Makrophagen der angeborenen Immunantwort verantwortlich. Die dabei wesentlichen exprimierten Rezeptoren für die Antigen-Erkennung sind die Cluster of Differentiation (CD) 14-, MD-2- & Toll-Like-Rezeptoren auf der Oberfläche der Monozyten. Diese allein können bereits Endotoxine binden, jedoch geschieht dies wesentlich effektiver durch ein Serumprotein, das Lipopolysaccharid-Binding-Protein (LBP). Dieses kann nicht nur Endotoxine selbst, sondern auch Endotoxin-Aggregate und endotoxinreiche Zellmembrane binden und einen festen Komplex ausbilden (Weiss 2003). Das LBP selbst ist ein 50 kDa großes Protein, das mit einer Plasma-Konzentration von etwa 500ng/ml konstitutionell hepatisch hergestellt wird. Im Rahmen akuter Phase Reaktionen kann die Konzentration auf das über 100-fache ansteigen. Die Komplexbildung von LBP mit LPS dient der Opsonierung und ermöglicht daher eine raschere Immunreaktion auf bereits kleinste LPS-Konzentrationen im Blut als es ohne der Fäll wäre (Schumann 1992). Dieser Komplex ist nun in der Lage, sich mit dem CD14-Rezeptor von reifen Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten zu verbinden (Raj et al. 2009). CD14, ein 53kDa großes Glykoprotein auf der Zelloberfläche der myeloischen Immunzellen, dient als Hauptrezeptor für die immunologische Detektion von LPS (Schumann 1992) und wird bei allen Formen von Entzündungsreaktionen hochreguliert.

Nach Bindung des LBP-LPS-Komplexes wird durch eine Aggregation von mehreren CD14-Rezeptoren zusammen mit einem Adapter-Protein MD2 und dem Toll-Like-Rezeptor 4 (TLR-4) schließlich eine intrazelluläre Signal-Transduktionskaskade initiiert. Die letzte Zielstrecke dieser Kaskade ist es, inhibitorische Untereinheiten des Transkriptionsfaktor „Nukleärer Faktor κ B“ (NF κ B) durch

Phosphorylierung zu inhibieren. Der dadurch aktivierte Transkriptionsfaktor initiiert damit die Genexpression von über 300 Einzelgenen, darunter die Produktion einiger immunologischen Alarmzytokine, wie Tumor Nekrose Faktor α (TNF- α) und IL-1, die wiederum über autologe Rückkopplung die Synthese weitere Zytokine, z.B. IL-6, IL-8 oder IL-12 bewirken (Rensing 2003). Ziel dieser Kaskade ist neben der Unterhaltung der Akute-Phase-Reaktion auch die Aktivierung immunkompetenter Zellen zur weiteren Infektabwehr.

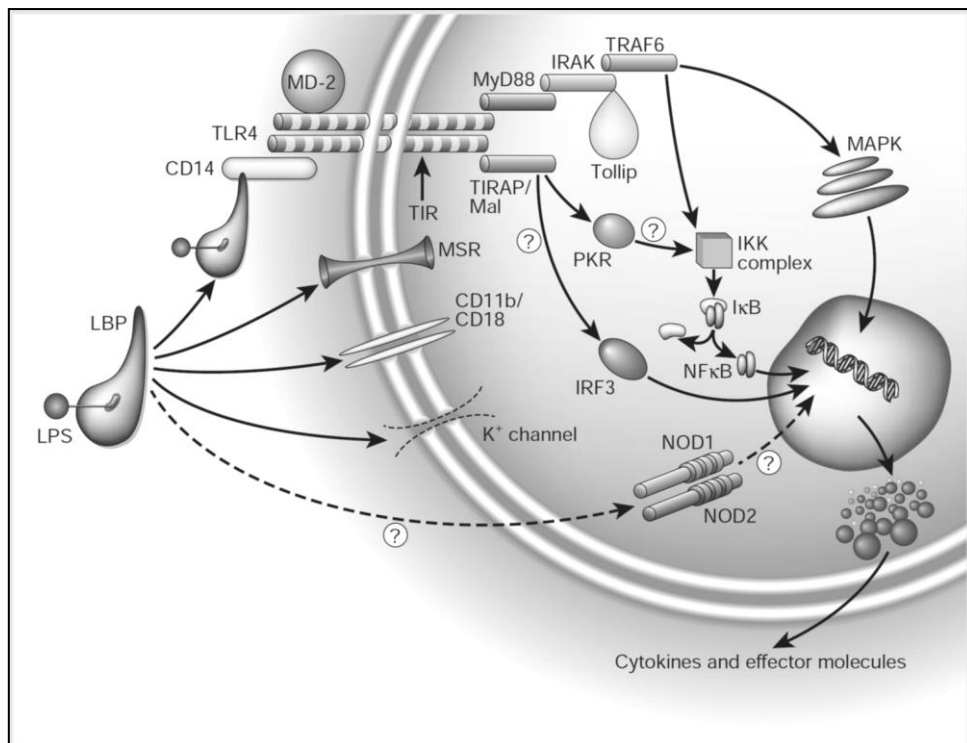


Abbildung 3: Intrazelluläre Signal-Transduktion nach Endotoxin-Kontakt. Abbildung aus (Cohen 2002).

Zusätzlich erfüllen die aktivierten Monozyten durch die Präsentation von phagozytierten Pathogenen gegenüber den CD-4 positiven T-Zellen die Rekrutierung des adaptiven Teils des Immunsystems. Dafür notwendig sind die Leukozyten-Antigene aus der Klasse der Major Histocompatibility Complex' (MHC), der sogenannten Human Leukocyte Antigen (HLA) – Antigen D Related (HLA-DR). Das aus zwei Untereinheiten bestehende HLA-DR übernimmt die Antigen-Präsentation von kurzen pathogenen Aminosäure-Sequenzen an die T-Lymphozyten. Die HLA-DR-Rezeptoren werden im Rahmen von Immunreaktionen unterschiedlich stark exprimiert und z.B. mehrere Untertypen im Rahmen von Abstoßungsreaktionen deutlich hochreguliert (Solomon et al. 2015). Nach Operationen, während und nach septischen Phasen, als auch bei durchgeführter Immunsuppression wird die Exprimierung von HLA-DR-Rezeptoren jedoch gehemmt (Handy et al. 2010).

1.4. Nierentransplantation

Als Therapie der terminalen Niereninsuffizienz konnte sich bislang neben der Hämo- oder Peritonealdialyse nur die Nierentransplantation etablieren. Unabhängig von der gesellschaftlichen und politischen Fragestellung nach einer ausreichenden Anzahl an Spendernieren konnte die Transplantationschirurgie große Erfolge in der Überlebenszeit des Transplantats und damit des Patienten erzielen (Hwang et al. 2011). Durch moderne immunsuppressive Therapien im direkten Anschluss an die Nierentransplantation konnte die Rate an akuten Abstoßungen auf etwa 8 % gesenkt werden. Die 5-Jahres-Rate an funktionierenden Nierentransplantaten liegt bei etwa 70 – 90 Prozent, je nach HLA-Kompatibilität, Art der Nierenspende und den Begleiterkrankungen des Empfängers. Die Sterberate der nierentransplantierten Patienten ist, abgesehen von einer kurzen postoperativen Periode gegenüber den Dialyse-Patienten deutlich verringert, das Langzeit-Überleben in Qualität und Quantität im direkten Vergleich deutlich erhöht. Ebenso konnten erhebliche Kostenersparnisse der Nieren-Transplantation inklusive aller Nachsorge-Maßnahmen gegenüber einer weiter durchgeführten Dialyse ermittelt werden (Kaden et al. 2011).

1.4.1. Komplikationen nach Nierentransplantation

Lange Zeit waren allogene Transplantationen aufgrund der nicht beherrschbaren Abstoßungsreaktionen nicht möglich. Erst mit dem Aufkommen der Immunsuppressiva in den 50 & 60er Jahren des letzten Jahrhunderts konnten erfolgreiche Transplantationen durchgeführt werden. Jedoch stellt die Abstoßungsreaktion, ob in der hochakuten, akuten, sowie chronischen Form, weiterhin der limitierende Faktor für den Erfolg der Transplantation und Transplantat-Funktion dar (Kramer et al. 2016).

Bislang stehen keine verlässlichen und klinisch verfügbare Parameter zur Verfügung, die (vor allem prädiktiv) das Risiko für Abstoßungsreaktionen oder Transplantatversagen abschätzen können (Lo et al. 2014; H. Meng et al. 2018). Verfügbare klinische Marker bleiben oft auf die Kontrolle der Serumspiegel der Immunsuppressiva, eine verminderte Volumenausscheidung sowie einen Kreatininanstieg reduziert. Dabei bleiben diese Werte allzu in ihrer prädiktiven Aussagekraft sehr unspezifisch. Ergeben sich dennoch Verdachtsmomente auf eine Abstoßungsreaktion bleibt zur verlässlichen Abklärung bisher nur die Durchführung einer Nierenbiopsie (Goerlich et al. 2020). Anhand des Ausmaßes der Leukozyteninfiltration und Antikörpernachweise kann dann mittels der Banff-Klassifikation (Banff, Canada) der Schweregrad der Abstoßungsreaktion abgeschätzt werden (Solez et al. 2008). Dies bedeutet jedoch einen invasiven und potenziell komplikationsträchtigen Eingriff und wird erst nach einer gewissen Zeit durchgeführt, in der die (Immun-)Reaktionen im

Transplantat-Organ schon stattgefunden haben (KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients 2009).

Im Rahmen der akuten Abstoßungsreaktion kommt es zu einer überschießenden immunologischen Reaktion. In der Transplantat-Niere kommt es zu einer Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen (z.B. IL-6 / IL-8 / TNF- α). Diese Zytokine bewirken einen Leukozyten-Einstrom und Bildung von Antikörpern und damit einhergehend eine fehlende oder rasch abnehmende Transplantatfunktion (Silverstein 2009). In der chronisch verlaufenden Form stehen eher Antikörper basierte Abstoßungsreaktionen, neben einer zunehmenden Fibrosierung der Transplantatniere, als auch medikamentös-toxische Reaktionen im Blickpunkt (Sellares et al. 2012). Grover et al. (2012) konnten nachweisen, dass die Antikörper von infiltrierenden B-Zellen, die in transplantierten Nieren durch Biopsien nachgewiesen wurden, sehr stark auf LPS reagieren und deren klinische Wirkung mit ihren Antikörpern blockieren können (Gover et al. 2012).

1.5. Endotoxinämie bei ESRD und Nierentransplantationspatienten

Sowohl Patienten mit einer chronischen als auch mit einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz haben zum Teil deutlich erhöhte Endotoxin-Serumspiegel im Vergleich zur gesunden Normalbevölkerung (Kovesdy et al. 2012; Wong et al. 2014 (Carron et al. 2019)). Die starke pro-inflammatorische Wirkung der Endotoxine wird daher als ein wichtiger Faktor für den nachgewiesenen Zustand der chronischen Inflammation bei Dialysepatienten vermutet (Terawaki et al. 2010). In Studien zu Nierentransplantationspatienten konnte eine erhöhte Endotoxinämie mit der langfristigen Graft-Funktion, sowie der Inzidenz von unerwünschten klinischen Ereignissen und letztlich mit der Mortalität dieser Patientengruppe in langfristiger Perspektive korreliert werden (Lemesch et al. 2016, (Carron et al. 2019)).

Bei der Betrachtung der vorliegenden Studien fällt jedoch auf, dass sich die erhobenen Werte auf stabile klinische Situationen beziehen. Sowohl bei den Dialyse- als auch bei den nierentransplantierten Patienten haben innerhalb der Studien keine größeren Eingriffe oder Veränderungen stattgefunden. Klinische Ereignisse wurden mittels Follow-up festgehalten und mit erhobenen Daten korreliert. Während auf diese Weise die Endotoxinämie bei CKD & ESRD-Patienten bereits durch zahlreiche Veröffentlichungen ausgiebig untersucht wurde, ist über die Entwicklung der Endotoxinämie beim unmittelbaren Beenden der Dialysebehandlung durch eine Nieren-Transplantation bislang nichts bekannt. Belastbare Daten, wie sich eine Endotoxinämie im direkten perioperativen Umfeld einer Nierentransplantation verändern, liegen bislang noch nicht vor.

Sehr nah an diese Frage kommt eine Studie von Carron et al (2019), eine Observationsstudie zur Endotoxinämie nach Nierentransplantation. Sie konnte ermitteln, dass eine erniedrigte LPS-Aktivität mit einem verlängerten abstoßungsfreiem Graft-Überleben einhergeht (Carron et al. 2019). Diese Studie beobachtete 146 Patienten nach Nierentransplantation über einen Zeitraum von einem Jahr hinweg bezüglich des Auftretens von Abstoßungsreaktionen. Jedoch wurden die Blutproben zur Ermittlung der LPS-Aktivität nur vor der Transplantation und etwa ein Jahr nach danach erhoben und mit den klinischen Ereignissen dazwischen korreliert. Eine detailliertere Abnahmefrequenz erfolgte nicht, ebenso wurden die EA mit dem LAL-Assay ermittelt. Während so eine langfristige Aussage getroffen werden kann, bleibt dennoch der direkte perioperative Zeitraum weiterhin nicht näher untersucht.

Bezüglich dieses perioperativen Zeitraums geht aus einer Studie von Maring et al. nach Lebertransplantationen hervor, dass eine erhöhte Endotoxinämie nach der OP nicht mit post-operativen chirurgischen Komplikationen zusammenhängt (Maring et al. 2000). Hilmi und Kollegen (2009) nutzten denselben EAA-Test und fanden damit heraus, dass Endotoxin-Konzentrationen noch bis sieben Tage nach einer Lebertransplantation erhöht sein können und dies auch mit der Rate an Abstoßungsepisoden in Zusammenhang gebracht werden kann (Hilmi et al. 2009). Rückschlüsse auf das generelle Patienten- und Graft-Outcome ließen sich jedoch auch mit dem EAA im Rahmen ihrer durchgeführten Studie nicht gewinnen, jedoch verweisen sie auf die Möglichkeit durch ein genaues Endotoxin-Monitoring mögliche Änderungen des immunologischen Status rasch erfassen zu können. Die Kollegen Abdala et al. (2007) fanden zudem heraus, dass es sich bei der Endotoxinämie nach einer Lebertransplantation um eine reine Endotoxinämie handelt, die von bakteriellen Infektionen unabhängig ist (Abdala et al. 2007).

1.5.1. Nachweis einer Endotoxinämie

Den theoretischen Überlegungen der Endotoxinämie als wichtige Ursache einer Immunaktivierung blieb lange Zeit die laborchemische Herausforderung einer validen Konzentrationsmessung der LPS in vivo bestehen (Wong et al. 2015). Eine erste Nachweis-Methode bildete der Rabbit Pyrogen Test, bei der ab den 1920er Jahren Versuchskaninchen Injektionen mit den Testseren verabreicht wurden und der Fieberanstieg zum Nachweis von Pyrogenen – und damit auch Endotoxinen führte. Da mit diesem Test nur ein rein qualitativer Nachweis erbracht werden konnte und die Fehleranfälligkeit offensichtlich war, brachte die Einführung des Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) in den 1970er Jahren eine erste quantitative Nachweismethode auf den Markt. Die Entdeckung, dass der Kontakt von Endotoxinen mit der blauen (!) Hämolymphe der Pfeilschwanzkrebse (*Limulus polyphemus*) eine

Koagulation auslöst, konnte zu dieser sehr sensitiven und validen Nachweismethode weiterentwickelt werden (Su und Ding 2015). Noch heute müssen als Auflage durch die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) Medikamente oder chirurgische Implantate weiterhin durch den LAL-Test auf Endotoxin-Freiheit hin getestet werden. Für einen Endotoxin-Nachweis in nicht-biologischen Settings zeigt diese Methode eine gute Sensitivität und Spezifität. Im Rahmen von in-vivo Endotoxinämien konnte jedoch eine Meta-Analyse nur eine geringe Übereinstimmung einer Septikämie und Endotoxin-Konzentrationen zeigen (Hurley 1994). Ebenso schwanken die ermittelten Konzentrationen zum Teil erheblich in ähnlichen Patienten-Kollektiven (Marshall et al. 2002). Darüber hinaus muss das Blut der Pfeilschwanzkrebse aufwendig durch Aderlässe gewonnen werden – mit dementsprechend negativen ökologischen Auswirkungen auf diese fossile Tierart. (Anderson et al. 2013). Das gewonnene Lysat stellt im chemischen Sinne eine recht uneinheitliche Mischung aus biologisch aktivierbaren Komponenten dar, die durch zahlreiche Störgrößen, wie Proteasen im Blut, notwendige chemische Zusätze in den Blutabnahme-Röhrchen, sowie bekannte zusätzliche Aktivierungsmöglichkeiten des LAL-Tests, wie Plasma-Proteine oder Pilzprodukte, beeinflusst werden können (Marshall et al. 2002). Weiterentwicklungen des Tests, u.a. chromogener LAL Assay oder turbometrischer LAL-Test konnten zwar Verbesserungen erzielen, die Grundproblematiken dieser Nachweis-Methode jedoch nicht wesentlich verändern (Su und Ding 2015).

1.6. Endotoxin Activity Assay (EAA)

Auf der Suche nach alternativen, sowie verlässlicheren Nachweis-Methoden wurde der Endotoxin Activity Assay (EAA) von der Firma Spectral Diagnostics Inc., Toronto, Kanada entwickelt. Dieser Test beruht auf der Reaktion von murinen monoklonalen IgM-Antikörpern gegenüber der Lipid A-Region der LPS (Romaschin et al. 1998). Neutrophile Granulozyten werden durch eine Complement Receptor 1 (CR1) und CR-3-Rezeptor-Reaktion auf die LPS-Antikörper-Komplexe zu einer Produktion von reaktiven Oxydantien (v.a. HClO = Hypochlorige Säure) getriggert. Der EAA-Wert wird durch akzidentielle oder externe Endotoxin-Kontaminationen der Puffer-Lösungen nur unwesentlich verändert, da der EAA auf die Anwesenheit von Blutproteinen und der spezifischen Bindung der Anti-Lipid A-Antikörper angewiesen ist. Das Assay bewies zudem eine sehr hohe Spezifität auf ausschließlich Endotoxine gram-negativer Bakterien und zeigte keine Reaktion auf Antigene gram-positiver Bakterien oder Pilze (Romaschin et al. 1998; Klein et al. 2007).

Der EAA konnte in Studien seine Aussagekraft bestätigen. Bei der Untersuchung von Intensiv-Patienten (MEDIC-Studie) hatte das Assay eine Sensitivität von 85% und eine Spezifität von 44% für den Nachweis einer Infektion mit gram-negativen Bakterien während des Aufenthalts auf der Intensivstation. Die

Mortalität sowie die Rate an schweren Sepsis-Verläufen unterschieden sich deutlich signifikant zwischen den Patienten mit EAA-Werten in normal-niedrigen, intermediären und hohen Bereichen (Marshall et al. 2002). Eine retrospektive Untersuchung dieser Studie erbrachte den Nachweis einer signifikanten Beziehung zwischen fluktuierenden Endotoxin-Werten im Laufe des Krankenhaus-Aufenthalts und dem Grad an Organdysfunktionen: Je häufiger der EAA-Wert zwischen den verschiedenen Bereichen fluktuerte, desto schlechter waren die Organfunktionen. Dabei war die genaue Höhe des Endotoxinwertes wenig relevant, vielmehr die Anzahl der (mathematischen) Wendepunkte in der Kurvendiskussion der Funktionsgraphen. (Klein et al. 2007).

1.7. Studienfrage: Kann das perioperative immunoinflammatorische Monitoring von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz bei einer Nierentransplantation einen prognostischen Nutzen haben?

Sowohl Dialyse- als auch nierentransplantierte Patienten leiden unter einer kompromittierten Funktion des Immunsystems - bei den ESRD-Patienten aufgrund der Dialysepflichtigkeit gepaart mit renaler und begleitender Grunderkrankungen und bei den transplantierten Patienten medikamentös bedingt (Carrero und Stenvinkel 2010; Lemesch et al. 2016). Gleichzeitig konnte eine Endotoxinämie mit einer Immunstimulation bei ESRD-Patienten in Zusammenhang gebracht werden, ein Umstand, der im perioperativen Rahmen von Nierentransplantationen bislang noch nicht beleuchtet worden ist.

Aufgrund der Tatsache, dass eine Endotoxinämie *vor* einer überschießenden Aktivierung des Immunsystems mit einer systemischen Entzündungsreaktion vorangeht, stellt sich für diese geplante Studie die Fragestellung, ob das engmaschige perioperative Monitoring der Endotoxinämie, gepaart mit der Erfassung von anderen klinischen und experimentellen immunoinflammatorischen Parametern eine prognostische und therapeutische Bedeutung für diese Patienten hat. Hierzu soll der Endotoxin Activity Assay erstmals an Dialyse-Patienten, sowie nierentransplantierten Patienten im perioperativen Setting angewendet werden.

Diese Studie möchte im ersten Studienteil an Dialysepatienten durch wiederholte Messungen der EAA vor und nach Hämodialysen herausfinden, wie sich die EAA-Werte bei diesen Patienten durch die Dialyse-Behandlung selbst, als auch in den Zeiten dazwischen verändern. Ebenso soll durch den Vergleich mit patienten-bezogenen Daten und klinischen Laborwerten der EAA-Wert in einen möglichen Gesamtkontext zur klinischen Situation der Patienten gestellt werden.

In der zweiten Teilstudie geht es darum, durch und mittels des EAA die Endotoxin-Aktivität im peri- und post-operativen Setting der Nieren-Transplantation verfolgen zu können. Durch den Vergleich mit laborchemischen Werten und klinischen Ereignissen sollen so Zusammenhänge ermittelt werden, um mögliche prognostische Hinweise für die Patienten gewinnen zu können.

Primärer Endpunkt der vorliegenden Studie ist daher die Untersuchung der Reagibilität des immunoinflammatorischen Systems mittels des Endotoxin Activity Assays (EAA) im perioperativen Rahmen einer Nierentransplantation, wie auch bei der Dialysebehandlung der terminalen Niereninsuffizienz.

Die sekundären Endpunkte umfassen die Korrelation der mit der EAA ermittelten Endotoxin-Aktivität mit

- Immunoinflammatorischen Parametern im Rahmen einer Dialysebehandlung
- Perioperativen immunoinflammatorischen Parametern
- Nierenfunktions-Parametern
- Auftreten von perioperativen Komplikationen, wie
 - das Auftreten einer Revisionsoperation
 - die Notwendigkeit einer Biopsie der Transplantatniere
 - Der Nachweis einer Transplantat-Abstoßung
 - Die Notwendigkeit einer Transplantat-Explantation

2. METHODEN

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Studie in zwei Arme aufgeteilt. Nachdem das Votum der Ethik-Kommission der LMU vorlag, wurden die Patienten eingeschlossen. Voraussetzung war stets eine schriftliche Einwilligungserklärung der volljährigen, geschäftsfähigen Studienteilnehmer, die zum Zeitpunkt der Studie dialysepflichtig waren. Patienten, die entweder schwanger, unter 18 Jahren, sprachlich/ kognitiv eingeschränkt waren oder Ihre Einwilligung zurückgezogen hatten, wurden von der Studienaufnahme ausgeschlossen.

2.1. Immunomonitoring bei Dialyse-Patienten

2.1.1. Studienablauf

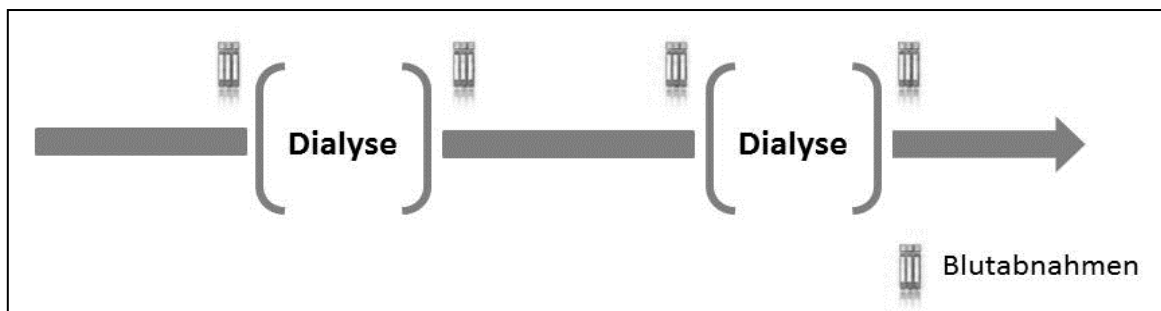


Abbildung 4: Blutabnahme-Schema der Dialysepatienten

Die ersten fünf Studienpatienten wurden anfangs auf der Dialysestation F 11 der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV am Klinikum Großhadern akquiriert. Der Großteil der insgesamt 30 Patienten in diesem Studienarm konnte in einer ambulanten Dialyse-Einrichtung für den Studieneinschluss gewonnen werden, das in enger Kooperation mit dem Klinikum Großhadern tätig ist. Der genaue Studienablauf lief für alle Studienteilnehmer einheitlich ab. Nach Aufklärung durch den jeweiligen Stationsarzt und schriftlichen Einwilligung der Patienten wurden den Dialysepatienten vor Beginn und direkt im Anschluss von zwei aufeinander folgenden Dialysen im Rahmen der allgemeinen Laborkontrolle zwei zusätzliche Blutröhrchen (Serum und EDTA) mit abgenommen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die erste Dialysesitzung nach einem langen Intervall von drei Tagen, die zweite Dialyse nach einem kurzen Intervall von zwei Tagen durchgeführt wurde. Dadurch sollen mögliche Unterschiede in den untersuchten Immunparameter in Abhängigkeit von den Dialyseintervallen nachgewiesen werden. Die EAA-Messungen wurden jeweils direkt im Anschluss an die Blutabnahme durchgeführt, für die erste Probe während der Dialyse, für die zweite Abnahme im Anschluss der

Dialysesitzung. Blutproben für die Durchflusszytometrie wurden 10-fach aliquotiert, bei -80°C eingefroren und bei einer genügend großen Anzahl an Patientenproben zeitnah durchgeführt.

Daneben wurden aus der Patientenakte die renale Grunderkrankung, aktuelle Laborwerte, Körpergröße und Gewicht sowie eine aktuelle Blutgas-Analyse erhoben.

2.2. Immunomonitoring bei Transplantations-Patienten

2.2.1. Studienablauf

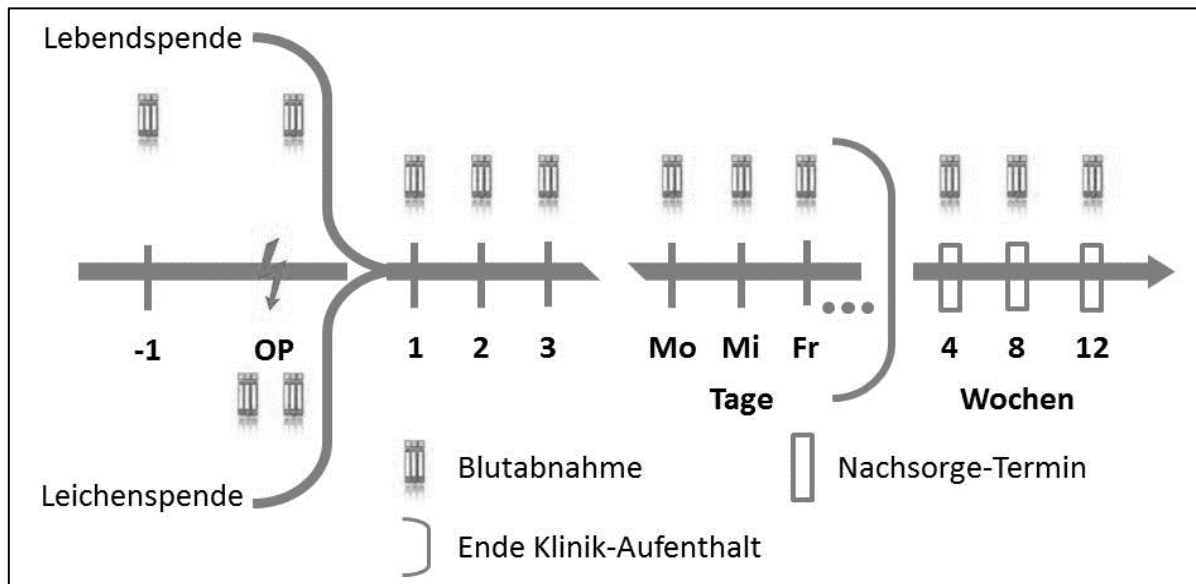


Abbildung 5: Blutabnahme-Schema der Nieren-Transplantations-Patienten

Abhängig von der Art der Nierenspende ergab sich zu Beginn der Patientenakquisition ein unterschiedlicher Ablauf. Bei Lebendnierenspenden konnte im Rahmen der allgemeinen Operationsvorbereitung bereits am Vortag der Operation die präoperative Blutprobe entnommen werden. Bei Leichenspenden war die Entnahme der präoperativen Blutprobe erst mit Eintreffen des Patienten wenige Stunden vor der Operation möglich. Nach der erfolgten Nierentransplantation folgten alle Studienteilnehmer einem einheitlichen Schema. Die erste post-operative Blutprobe wurde ebenfalls mit der allgemeinen postoperativen Laborkontrolle etwa vier Stunden nach der Operation mit abgenommen. Danach folgten an den ersten drei Tagen jeweils am Morgen nüchtern die Blutabnahmen, möglichst im Rahmen der allgemeinen Laborkontrollen. Danach richteten sich die Blutabnahmen zum einen nach dem allgemeinen Abnahmeschema der Transplantationsstation, zum anderen nach der Dauer des Patientenaufenthaltes. Bei zusätzlichen Laborkontrollen wurden ebenso Proben für die Studie mit entnommen. Bei kritisch niedrigen Hämoglobinwerten, wie auch Aufenthalte auf Intensivstationen wurde auf die zusätzliche Probenentnahme verzichtet.

Poststationär wurde den Patienten während den Nachsorgeterminen in der Transplantationsambulanz, die anfangs in einem wöchigen Rhythmus stattfanden, ebenfalls mit der allgemeinen Laborkontrolle weitere Blutproben für die Studie mit entnommen.

Die einzelnen erhobene Daten beinhalteten:

Bereich	Einzelwerte
Patienten	Alter, Geschlecht, Größe, (Trocken-)Gewicht, CIRS-Score, Dauer des Krankenhaus-Aufenthalts
Dialyse	Renale Grunderkrankung, Art & Dauer der Dialyse, Rest-Diurese & Menge
Transplantation	Art der Nierenspende, Alter Nierenspender, OP-Dauer, Blutverlust, ABO-Kompatibilität, Kalte Ischämiezeit, EK-Gabe
Post-operative Phase	Blutdruck, Puls, Temperatur, Flüssigkeits-Bilanz, Urin- & Blutdiagnostik, Art und Dosierung der Immunsuppression, Diuretika-Gaben, Antibiotika-Gaben, Nieren-Biopsien, EK-Gaben, Chirurgische Interventionen, Nachkontrollen

2.3. Endotoxin Activity Assay™

Zur Bestimmung der Endotoxin-Aktivität der Patientenproben wird das Endotoxin Activity Assay (EAA™) der Firma Spectral Diagnostics Inc., Toronto, Canada verwendet.

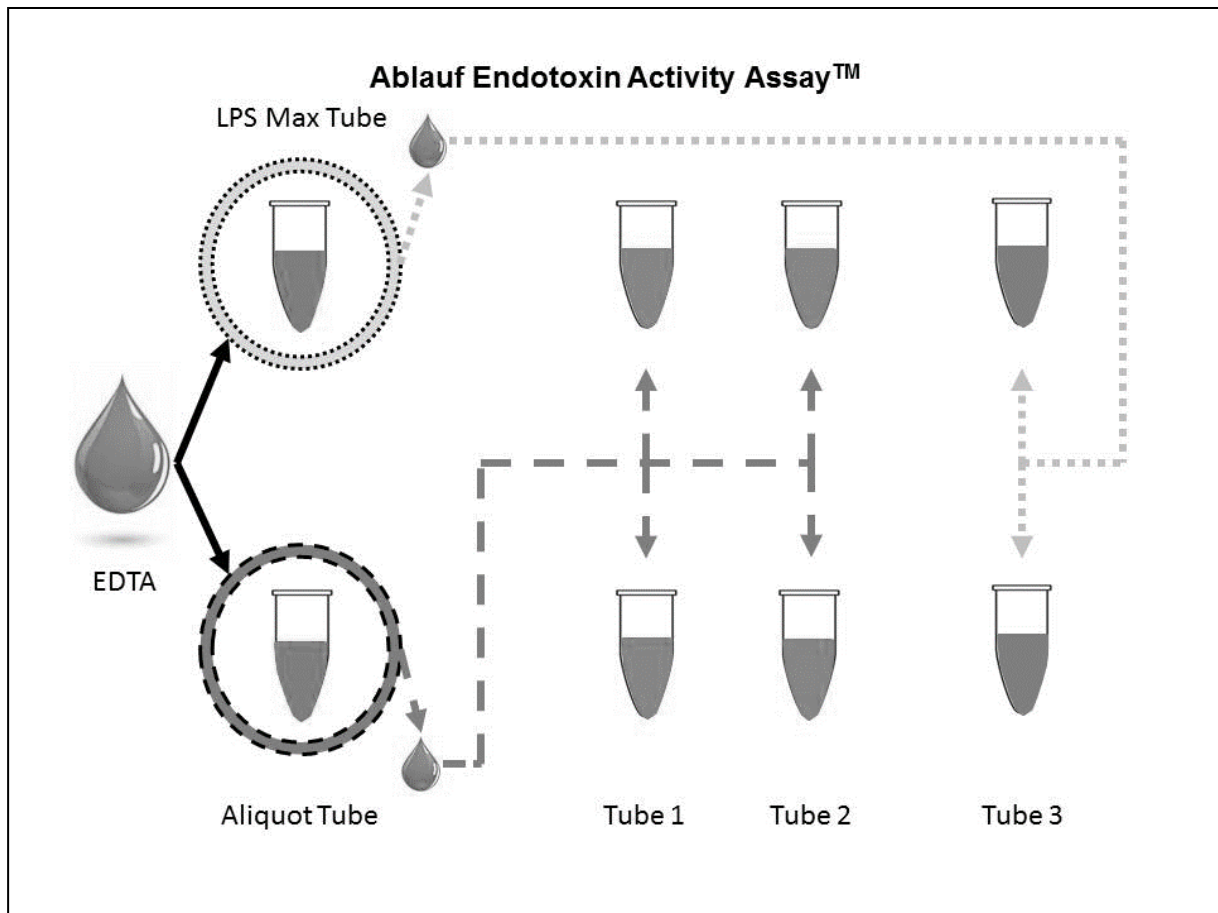


Abbildung 6: Ablauf des EAA™ nach Firmen-Instruktionen. Eigene Darstellung.

Der Ablauf des Tests findet dabei wie folgt statt: Initial werden in die Tuben 1, 2 und 3 jeweils 1,0 ml EAA-Reagenz eingefüllt. In das Aliquot Tube, sowie in das LPS Max Tube werden jeweils 0,5 ml EDTA-Vollblut mit endotoxin- und pyrogen-freien Pipettenspitzen hinein pipettiert, kurz mit Hilfe des Vortexers aufgeschüttelt und für 10 Minuten in dem Shaker bei 37°C inkubiert. Danach werden die beiden Proben nochmals kurz mit dem Vortexer aufgeschüttelt und anschließend kommen 40 µl aus dem Aliquot Tube in die Tuben 1 und 2. Aus der ebenfalls zuvor aufgeschüttelte LPS Max Probe werden ebenso 40 µl für die beiden Tuben 3 entnommen. Es folgen weitere 15 Minuten im Inkubator bei ebenfalls 37°C für alle Proben. Für die Auswertung im Smartline EAA Luminometer der Firma Berthold Detection Systems GmbH werden die einzelnen Proben nach Ablauf der Zeit nochmals aufgeschüttelt und dann in aufsteigender Reihenfolge, beginnend mit den beiden Tuben 1, analysiert. Der Geräte-Ausdruck mit den Ergebnissen wird im Laborbuch vermerkt, sowie die Ergebnisse im jeweiligen Case Report File des Patienten festgehalten. Liegt der CV% als Maß für die prozentuale Abweichung zwischen den beiden durchgeführten Messungen unter 40%, kann das Messergebnis mit dieser

nötigen Toleranz akzeptiert werden. Liegt der CV%-Wert darüber, muss die Messung aufgrund einer zu großen Abweichung zwischen beiden Werten nochmals wiederholt werden.

Das Ausmaß der Reaktion wird über eine chemoluminescente Reaktion bei 450nm Lichtwellenlänge mit Luminol (3-Aminophthalsäurehydrazid) standardisiert gemessen. Die Standardisierung wird durch eine dreiteiliges Assay erreicht: Jede Reagenz-Reihe wird mit 40 µl Patienten-Vollblut befüllt. Die Baseline-Messung (A) wird zwar mit allen Reagenzien, jedoch ohne Lipid-A-Antikörper gemessen, die eigentliche Messung (B) mit Lipid-A-Antikörpern und eine dritte Maximal-Messung (C) mit überschießend viel exogenem Endotoxin befüllt. Als Einheit wird dabei eine Endotoxin Aktivität (EA) durch den Algorithmus

$$\frac{(B - A)}{(C - A)}$$

errechnet, die standardisiert gegenüber einem WHO Endotoxin Standard von E-coli 055:B5 ist und in einer relativen Einheit zwischen 0 und 1 wiedergegeben wird (Romaschin et al. 2012). Dabei steht den EAA-Werten eine logarithmische LPS-Konzentration gegenüber. Aus der FDA-Zulassungsstudie konnte unterschiedliche Messbereiche ermittelt werden: Normal-niedrige EAA-Werte von gesunden Probanden reichen bis 0,4 EA-Einheiten, ein intermediärer Bereich reicht von 0,4 – 0,59 und EA-Einheiten ab 0,6 gelten als erhöht und prognostisch ungünstig (Marshall et al. 2004). Die Messgenauigkeit dieses relativen Wertes wurde mit Hilfe der Co-efficient of Variation (CV – Berechnung: Standard-Abweichung / Median * 100) auf weniger als 10% bei Werten über 0,4 mittels eines automatischen Chemoluminometer bestimmt. Weiterhin wurde nach ausgiebiger Testung durch die FDA herausgefunden, dass der EAA-Wert nicht durch Steroidgaben, die im Rahmen der Behandlung von septischen Schocks verabreicht wurden, beeinflusst wird. Auch für Immunsuppressiva, wie nach Leber- oder Nieren-Transplantation notwendig, konnte keine relevante Beeinflussung der Messergebnisse herausgefunden werden (Romaschin et al. 1998).

2.4. Durchflusszytometrie

2.4.1. Vorbereitungen zur Durchflusszytometrie

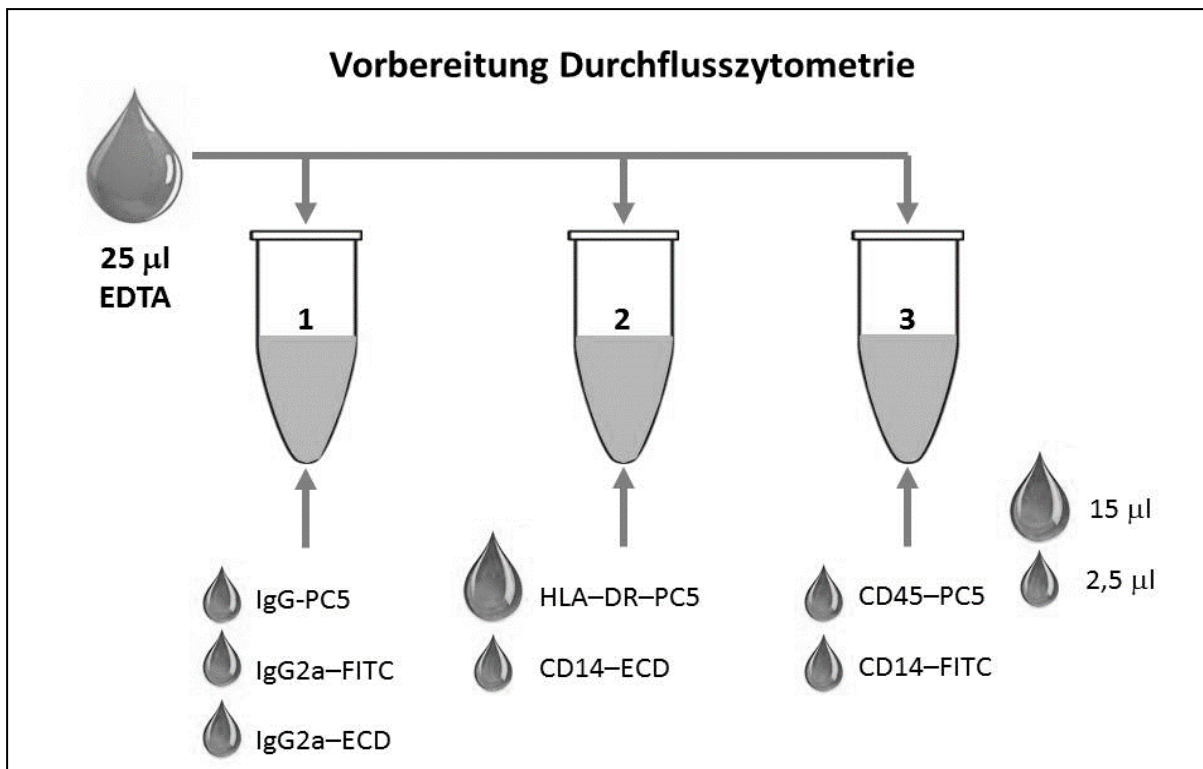


Abbildung 7: Vorbereitung der BD Falcon Tubes® mit Antikörpern für die Durchflusszytometrie. Eigene Darstellung

Für die Durchflusszytometrie werden drei Eppendorf Pipetten mit jeweils 25 µl EDTA-antikoaguliertem Blut gefüllt, die Fluoreszenz-Antikörperkonjugate nach gezeigtem Schema und Menge hinzugefügt und mit dem Vortexer durchgemischt. Anschließend folgt eine 20-minütige Inkubation bei 4°C. Vor dem nächstfolgenden Schritt werden die abgekühlten Proben kurz in einem Wasserbad bei 37°C für etwa 1-2 Minuten erwärmt. Schließlich werden jeweils 250 µl OptiLyse den Proben hinzugefügt. Hierbei muss beachtet werden, dass direkt nach der einzelnen OptiLyse-Gabe die Probenlösungen direkt gevortext werden müssen, bevor die nächste erfolgen kann. Die Proben verbleiben dann für weitere 20 Minuten im erwärmten Wasserbad (bei 37°C). Da die Reagenzien währenddessen vor Licht geschützt werden müssen, sind sie durch eine Alufolie vor Licht abgedeckt. Wenn aus organisatorischen Gründen die durchflusszytometrische Messung nicht direkt im Anschluss der Blutabnahme durchgeführt werden konnte, wird dieser Schritt anstelle des Wasserbads im Kühlschrank bei 4°C und ebenfalls durch Alufolie komplett abgedeckt durchgeführt. Dieses Procedere erlaubt eine gleichwertige, jedoch zeitversetzte durchflusszytometrische Analyse. Direkt vor der eigentlichen Analyse kommen die Proben für weitere 20 Minuten in eine Schublade, in der die Proben

vor Licht geschützt nochmals ruhen können. Unmittelbar vor der Messung werden 250 µl Phosphat-Buffered Saline (PBS)-Lösung hineinpipettiert, kurz gevortext und schließlich mit dem COULTER® EPICS XL™ durchflusszytometrisch gemessen. Die Analyseprotokolle werden zusammen mit den CRF aufgehoben und abschließend ausgewertet.

2.4.2. Funktionsweise der Durchflusszytometrie

In der eigentlichen Durchflusszytometrie können Zellen anhand ihrer optischen Eigenschaften untersucht werden. Dazu werden die zu untersuchenden Zellen mittels einer Hüllflüssigkeit (auch Sheat Fluid) durch einen permanenten Hüllstrom einzeln an der optischen Messeinheit vorbeigeführt und durch einen Argon-Laser (mit einer Licht-Wellenlänge von 488nm) fokussiert bestrahlt.

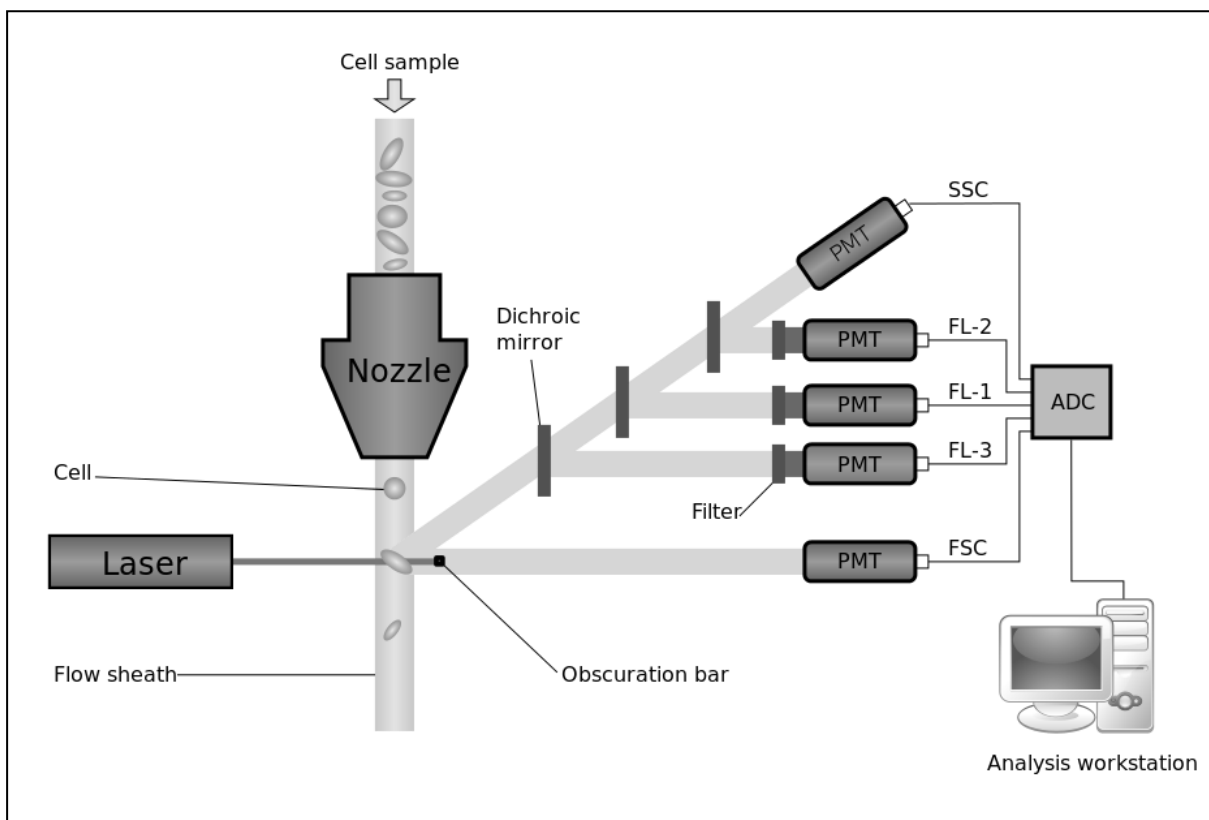


Abbildung 8: Schematischer Aufbau der optischen Messeinheit einer Durchflusszytometers. (Schematic diagram of a flow cytometer 2016)

Anhand des zellulären Aufbaus, anhängig von der Größe der Zelle, der Aufbau des Zellkerns, sowie der Granularität, wird das einfallende Laserlicht unterschiedlich gestreut. Optische Sensoren (Photomultiplier Tubes PMT) messen das gestreute Licht sowohl in einem sehr flachen Winkel von nur 1-20° zur Zellbewegung (sog. Vorwärtsstreuung oder Forward Scatter FSC), sowie eine im 90°-Winkel stehende Seitwärtsstreuung (sog. Sideward Scatter SSC). Zusätzlich werden auch unterschiedliche Wellenlängen des Laserlichts genutzt, um weitere Informationen generieren zu können. Um die

Messgenauigkeit zu erhöhen werden dichroitische Filter verwendet, die nur Licht bestimmter und gewünschter Wellenlängen passieren lassen, um so Störungen durch Streueffekte andere Spektralfarben zu minimieren (Delude 2005).

2.4.3. FACS-Analyse

Mittels der Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS®)-Technik können genauere Zellstrukturen oder Bestandteile der untersuchten Zellen erfasst werden. Dazu nutzt man mit Fluoreszenz-Farbstoffen markierte monoklonale Antikörper, die sich mit ihren freien bzw. variablen Enden an die gewünschte Struktur, wie in hiesigen Fall bestimmte CD-Antigene anheften. Der an dem konstanten Teil des Antikörpers angeheftete Farbstoff wird nun durch Laserlicht angeregt und emittiert daraufhin sein spezifisches Fluoreszenzlicht, das ebenso optisch gemessen wird. Die in der laborchemischen Analyse genutzten Fluoreszenz-Farbstoffe Fluoresceinisothiocyanath (FITC), Phycoerythrin Cy 5 (PE5) und PE Texas Red (auch Electron Coupled Dye ECD) besitzen unterschiedliche Emissionsmaxima bei relativ ähnlichen Exzitations-Wellenlängen.

Fluoreszenzfarbstoff	Exzitations-Maximum (nm)	Emmissions-Maximum (nm)	Geeignete Laser (nm)
Fluoresceinisothiocyanath (FITC)	488	520	488
Phycoerythrin Cy 5 (PE5)	496	667	488
PE Texas Red® (ECD)	496	612	488

Tabelle: 1: Übersicht über die spektralen Eigenschaften der verwendeten Fluoreszenz-Farbstoffe. (BD BioSciences 2015)

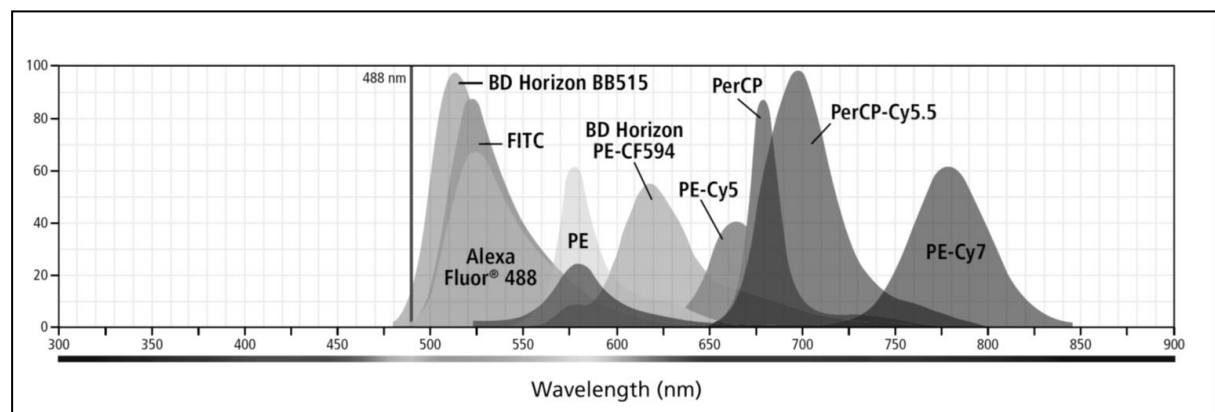


Abbildung 9: Darstellung der Emissions-Maxima der verwendeten Fluoreszenz-Farbstoffe. In der Abbildung ist BD Horizon PE-CF594 dem PE Texas Red® in etwa gleichzusetzen. Abbildung aus (BD BioSciences 2015).

2.4.4. Analyse und Auswertung

Zur computer-gestützten Analyse der Messergebnisse wurde das Programm WinMDI 2.9 verwendet. Mit dessen Hilfe wurde aus den Rohdaten in Form von zellulären Streudiagrammen und Histogrammen neben der Zell-Anzahl und Gesamtanteil der interessanten Zellpopulationen auch deren Mean Fluorescence Intensity (MFI) ermittelt. Die MFI dient als Maß für die gemessene Fluoreszenz-Aktivität und damit als Marker über die Anzahl oder Menge der untersuchten Strukturen.

2.5. Klinische Labor-Parameter

Innerhalb dieser Arbeit wurden sämtliche klinischen Laborparameter mit herangezogen, die im Rahmen der regelmäßigen Laborkontrollen prä- und post-operativ von den Patienten erhoben wurden. Im Einzelnen wurden folgende Werte erfasst:

Bereich	Einzelwerte			
Elektrolyte	Natrium	Kalium	Calcium	
Glucose-Stoffwechsel	Glucose-Konzentration	Hb1Ac		
Niere	Kreatinin	Harnstoff	Phosphat	
Leber	Gesamt-Eiweiß	Albumin	Bilirubin	
Blutbild	Leukozyten	Hämoglobin	Thrombozyten	
Differenzial-Blutbild	Segmentkernige	Lymphozyten	Monozyten	
Gerinnung	Quick	INR	Fibrinogen	Antithrombin
Klinische Entzündungs-Parameter	CRP	Procalcitonin	IL-6	LDH
Eisen-Stoffwechsel	Ferritin	Transferrin		

2.6. Inflammatorische Parameter

Als inflammatorischen Parametern wurde der EAA-Wert aus mindestens zwei Einzelmessungen ermittelt, oft auch aus 4 Einzelmessungen der gleichen Blutprobe und der arithmetische Mittelwert als Ergebnis festgehalten. Zusätzlich wurde durch die FACS-Messungen der Anteil der Monozyten, der CD14+, CD45+, CD14/CD45+ und der CD14/HLA-DR+ Subpopulationen ermittelt. Darüber hinaus wurden die HLA-DR Expression (via HLA-DR PC5), sowie die Mean Fluorescence der CD14+ Expression (via CD14 ECD) ermittelt.

2.7. Gruppeneinteilung für klinischen Vergleich

Für die Auswertung der Studienergebnisse stellt sich initial die Frage nach einer sinnvollen Aufteilung der Patienten in zu vergleichende Gruppen. Dazu sollen auch Erfahrungen vorangegangener Studien mit dem EAA, dass weniger der absolute EAA-Wert an sich prognostisch maßgeblich ist, sondern vielmehr a) in welchem Bereich sich der EAA-Wert befindet und b) die Variabilität, wie häufig sich der EAA-Wert zwischen unterschiedlichen Bereichen verändert, in die Analyse der vorliegenden Studienergebnisse mit einfließen (Klein et al. 2007; Romaschin et al. 2012). Dazu wurden die EAA-Bereiche der Firma Spectral Diagnostics Inc. übernommen, die sich bereits in vorangegangenen Studien als prognostisch wirksam erwiesen haben:

Normaler Bereich:	0,00	\leq	EAA-Wert	\leq	0,39
Erhöhter Bereich:	0,40	\leq	EAA-Wert	\leq	1,00

Diese Zweiteilung aller verfügbaren EAA-Werte erlaubt es, bei einer Studienanzahl von 18 Patienten eine statistisch sinnvolle Einteilung zu erhalten. Ausgehend von der Studienfrage, inwieweit die Höhe des EAA-Werts bzw. die Verteilung der EAA-Werte in die unterschiedlichen Bereiche einen prognostischen Wert für den klinischen Verlauf der Patienten haben kann, werden die gemessenen EAA-Werte der Patienten zueinander in Bezug gesetzt. Die Bereiche werden daher mittels der Formel

$$\frac{\text{Erhöhter Bereich}}{\text{Niedriger Bereich}}$$

in einen Quotienten in Beziehung zueinander gesetzt. Ein Quotient von kleiner 1,00 bedeutet, dass weniger als die Hälfte aller Messwerte im erhöhten im direkten Vergleich zum niedrigen Bereich liegen. Diese Patienten werden aufgrund der mehrheitlich niedrigen Werte als Low Risk Gruppe oder Gruppe A zusammengefasst.

Ein Quotient von größer oder gleich 1,00 bedeutet, dass die Messwerte mehrheitlich im erhöhten Bereich liegen. Daher werden diese Patienten in einer High Risk Gruppe oder Gruppe B gebündelt. Bei einer Patientin konnten aufgrund einer schon vorbestehenden und im stationären Aufenthalt fortbestehenden schweren Anämie nur zwei Blutproben für die Studie abgenommen werden. Da nur diese beiden Werte ebenfalls einen Quotienten bilden, der sie in die Hochrisikogruppe B hineinbringen würde, ist sie entgegen der aufgestellten Regel in der ersten Gruppe belassen worden.

Die Studienpatienten werden anhand dieser Einteilung in zwei Gruppen unterteilt, zum einen in eine Low Risk Gruppe von insgesamt 12 Studienpatienten, sowie in eine High Risk Gruppe mit 6 Studienteilnehmern.

2.8. Datenerhebung und statistische Analyse

Für eine möglichst lückenlose Erhebung der Patientendaten wurde alle relevanten personenbezogenen Daten mittels eines Case Report Files (CRF) pseudonymisiert festgehalten. Für die Datenspeicherung wurde Microsoft Excel und Word 2010 genutzt. Vorbestehende Grunderkrankungen wurden mit Hilfe des Critical Illness Rating Scale (CIRS) auf Organsysteme kategorisiert erfasst und anhand des Schweregrades eingeteilt. Die Datenanalyse erfolgte mit SPSS Version 20.0.0 (2011). Korrelationen zwischen intervallskalierten Daten wurden mittels Pearson Korrelationskoeffizienten, bei ordinalskalierten Daten oder Daten, bei denen eine Normalverteilung nicht mit Sicherheit angenommen werden können, mittels Spearman Korrelationen ermittelt. Unterschiede bezüglich der zentralen Tendenz zwischen intervallskalierten Daten wurden mit einem T-Test sowohl für unverbundene als auch für verbundene Stichproben untersucht. Bei nicht intervallskalierten Daten wurde für unabhängige Stichproben der Mann-Whitney-U-Test und für abhängige Stichproben der Wilcoxon-Test verwendet. Einfache und multiple Regressionsanalysen wurden für die Untersuchung, inwieweit einzelne oder mehrere Faktoren auf die Höhe der EAA-Werte Einfluss nehmen, hergenommen. Bei der Betrachtung, inwiefern das Auftreten von klinischen Ereignissen mit den erhobenen Laborwerten und den ermittelten experimentellen Parametern zusammenhängt, wurde auf logistische Regressionsverfahren zurückgegriffen. Das Signifikanz-Niveau wurde mit den allgemein üblichen 0,05 gewählt und jeweils mit * markiert. Werte von 0,01 und kleiner wurden mit ** gekennzeichnet. Alle erhobenen Daten wurden nur auf lokalen Speichermedien und Rechnern mit jeweils aktueller Antiviren-Software gespeichert. Eine Weitergabe an unbeteiligte Dritte hat zu keinem Zeitpunkt stattgefunden.

3. MATERIAL

3.1. Material- und Geräteliste

Im Rahmen der beiden Teilstudien werden folgende Materialien und technische Hilfsmittel verwendet, die im Rahmen des Budgets der Chirurgischen Forschung am Klinikum Großhadern zur Verfügung gestellt wurden bzw. durch Drittmittel erworben werden konnten.

3.1.1. Blutabnahmen

- Safety-Multifly®-Set 0,8×19mm, SARSTEDT AG&Co. Nürnberg
- S-Monovette® 9ml K3E SARSTEDT AG&Co. Nürnberg
- S-Monovette® 3ml 9NC SARSTEDT AG&Co. Nürnberg
- S-Monovette® 9ml Z SARSTEDT AG&Co. Nürnberg

3.1.2. Plasma-Gewinnung

- Pipette, Eppendorf Research 1000 µl, Eppendorf AG Hamburg, Germany
- Tischzentrifuge, Hettlich Rotanta/S, Hettlich AG, Bäch, Schweiz
- Tischzentrifuge, Hettlich Rotanta 460R, Hettlich AG, Bäch, Schweiz
- CryoTubes™ Vials 1ml, Nunc A/S, Roskilde, Dänemark
- Pipettenspitzen, epT.I.P.S. 50-1000µl, Eppendorf AG Hamburg, Deutschland

3.1.3. Endotoxin-Bestimmung

- Endotoxin Activity Assay® Kit, Spectral Diagnostics Inc., Toronto, Kanada
- Endotoxin Activity Assay Reagent, 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
- Smartline EAA Luminometer, Berthold Detection Systems GmbH, Pforzheim, Deutschland
- Incubating Mini Shaker, VWR International LLC, West Chester, PA, USA
- Vortex Mixer VX-100, Labnet International Inc., Edison, NJ, USA
- Pipette Eppendorf Research 10µl, Eppendorf AG Hamburg
- Pipette Eppendorf Research 100µl, Eppendorf AG Hamburg
- Pipette Eppendorf Research 1000µl, Eppendorf AG Hamburg

3.1.4. Durchfluss-Zytometrie

- Durchflusszytometer, COULTER® EPICS XL™ with ADC, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
- Thermostat, MGW Lauda MS, Fa. MGW Lauda, Lauda-Königshofen
- Vortex Mixer VX-100, Labnet International Inc., Edison, NJ, USA
- Vibrofix VN1®, Janke & Kunkel, Staufen im Breisgau, Deutschland
- Pipette Eppendorf Research 10µl, Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
- Pipette Eppendorf Research 100µl, Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
- Antikörperkonjugate, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA:
 - IgG1(Mouse)-PC5 (Clone: 679.1Mc7),
 - IgG1(Mouse)-PE (Clone: 679.1Mc7),,
 - IgG2a(Mouse)-ECD (Clone: 7T4-1F5),
 - IgG2a(Mouse)-FITC (Clone: 7T4-1F5),
 - HLA-DR-PC5 (Clone: Immu357),
 - CD14-ECD (Clone: RMO52),
 - CD45-PC5 (Clone: Immu19.2),
 - CD14-FITC (Clone: RMO52),
- OptiLyse C Lysing Solution, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA
- Phosphate-buffered-saline (PBS), PAN™ Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland
- Pipettenspitzen, epT.I.P.S. 2-200µl, Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
- Pipettenspitzen, epT.I.P.S. 50-1000µl, Eppendorf AG Hamburg, Deutschland
- BD Falcon™ 5ml Round Bottom Tubes, BD Biosciences, San Jose, CA, USA

4. ERGEBNISSE

4.1. Studienarm A: Immunomonitoring bei Dialyse-Patienten

4.1.1. Deskriptive Statistik

Die Patienten für die beiden Teilstudien wurden an unterschiedlichen Standorten für die Studienteilnahme akquiriert. Die Dialysepatienten (n=30) für die erste Teilstudie stammen sowohl von der Dialyse-Station des Klinikums Großhadern (n=5), sowie eine dem Klinikum assoziiertem ambulanten Dialyse-Zentrum (n=25). Die Patienten der zweiten Teilstudie erhielten ihre Nierentransplantation in der Chirurgischen Klinik des Klinikum Großhaderns (n=18). Bei allen Patienten lag zum Zeitpunkt der Blutabnahmen eine schriftliche Einwilligung nach Aufklärung durch die betreuenden Ärzte vor.

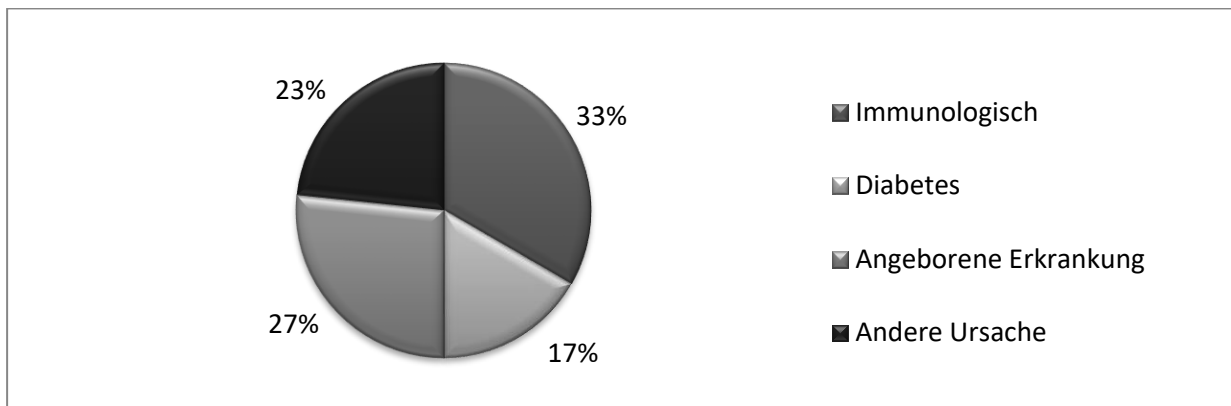


Abbildung 10: Renale Grunderkrankungen der Dialyse-Patienten.

Die Grunderkrankungen gliedern sich dahingehend auf, dass ein Drittel (n=10) der Dialyse-Patienten an immunologischen Prozessen, darunter u.a. die Glomerulonephritis, Hämolytisch-Urämisches-Syndrom (HUS) oder systemischen autoimmunologischen Grunderkrankungen litten. 17% (n=5) der Patienten wurden aufgrund ihrer fortschreitenden diabetischen Erkrankung, 27% (n=8) aufgrund angeborener Nierenerkrankungen, wie Zystennieren oder dysplastischen Nieren dialysepflichtig. Knapp ein Viertel (n=7) des Kollektivs verlor durch andere Ursachen zusammengefasst ihre Nierenfunktion. Darunter fallen Patienten, bei denen z.B. keine eindeutige Genese ermittelt werden konnte, Vergiftungen erlitten oder aus einer akuten nephrologischen Erkrankung dauerhaft dialysepflichtig wurden. Die zugrunde liegenden renalen Grunderkrankungen der Studien-Patienten stimmen in ihrer Verteilung im Wesentlichen mit denen der Gesamtpopulation der Dialysepatienten in Deutschland überein.

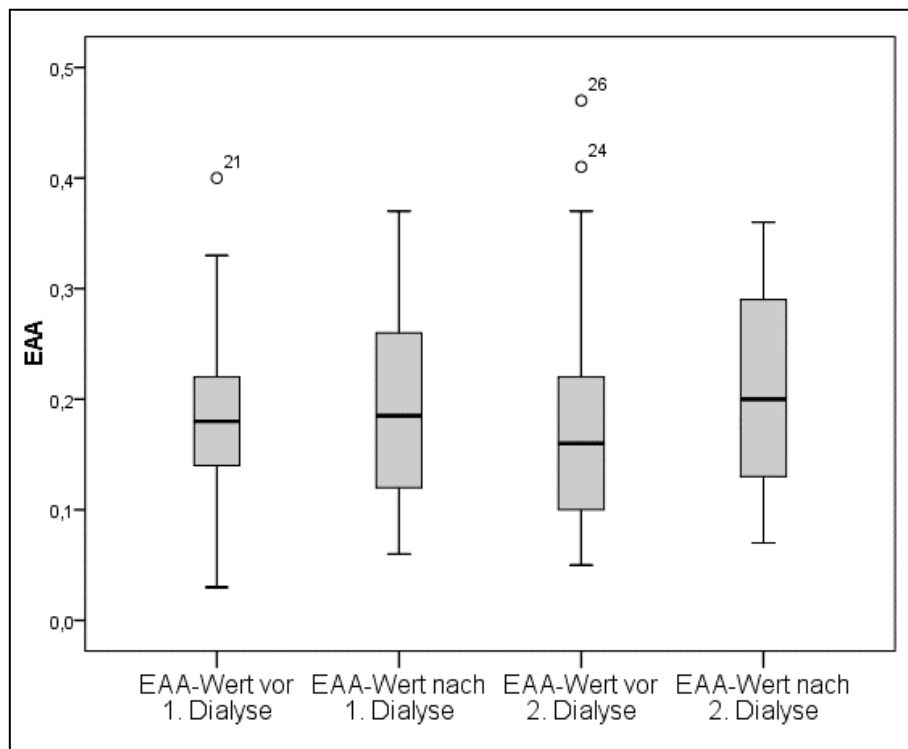
4.1.2. Klinischer Verlauf und Ergebnisse

Teilstudie A: Dialyse-Behandlung (Alle Werte als Median \pm SD)			
Anzahl n		30	
Weiblich		13 (43%)	
Alter		67,6 (30,1 – 85,4)	\pm 14,5
Trockengewicht (kg)		70,7 (35,2 – 122,5)	\pm 19,3
CIRS-Score		19,8	\pm 4,4
Hb-Wert (g/dl)		11,5	\pm 1,1
HbA1c (%)		5,5	\pm 0,7
Albumin (g/l)		4,1	\pm 0,5
CRP (mg/l)		5,3	\pm 6,4
Kreatinin		9,2	\pm 2,4
Patienten mit Rest-Ausscheidung		14 (47%)	
Dauer Dialyse-Behandlung (Jahre)		3,4 (0,3 – 18,0)	\pm 4,9
1. Dialyse-Sitzung	Dauer (h)	4,4	\pm 0,3
	Entzug (l)	2,5	\pm 1,2
2. Dialyse-Sitzung	Dauer (h)	4,4	\pm 0,3
	Entzug (l)	2,0	\pm 1,2

Tabelle: 2: Deskriptive Statistik der Patienten der Dialyse Teilstudie. Der CIRS-S

Das mediane Patientenalter aller Dialysepatienten unterscheidet sich mit insgesamt 67,6 Jahren (davon 66,1 Jahre für Männer und 73,2 Jahre für Frauen) nicht wesentlich von dem Altersmedianen aller in Deutschland behandelten Dialysepatienten (gerundetes medianes Alter der Männer: 70,0 und Frauen: 73,0 Jahre) (Potthoff et al. 2015). Die routinemäßig erhobenen klinischen Laborparameter der Studienpatienten zeigen ebenso keine relevanten Unterschiede zu großen Populationen anderer Hämodialyse-Patienten (Quereshi et al. 2002). Insbesondere ergaben sich keine Hinweise für eine akute Infektion oder Blutbildstörung. Daher wird auf eine detaillierte Darstellung dieser klinischen Werte aufgrund fehlender Relevanz für die Erkenntnisse dieser Doktorarbeit verzichtet.

4.1.3. Laborexperimentelle Ergebnisse



Der
dieses

Abbildung 11: Verteilung der EAA-Werte der Dialyse-Patienten vor und nach einer regulär durchgeführten Dialysesitzung.

Fokus

Studienarms besteht darin, die Höhe der EAA-Werte und ihre Änderungen aufgrund regelmäßiger Dialyse-Sitzungen zu ermitteln. Hier zeigt sich, dass die EAA-Werte durch eine Hämodialyse unbeeinflusst bleiben. Zwischen den Werten vor und nach der 1. Dialyse sind keine Unterschiede feststellbar (T-Test für gepaarte Stichproben: MW=0,183 zu 0,187, $p=0,87$), gleiches gilt für die Werte vor und nach der 2. Dialyse (MW=0,178 zu 0,211, $p=0,09$). Auch mit Blick auf das Intervall zwischen den Dialysen können keine wesentlichen Unterschiede festgestellt werden (MW nach 1. Dialyse: 0,187 zu MW vor 2. Dialyse 0,178, $p=0,65$). Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich die Endotoxin-Aktivität (EA) bei klinisch stabilen Hämodialyse-Patienten auf einem gleichbleibenden Niveau einpendelt und durch die Dialysesitzungen unbeeinflusst bleibt.

Die Endotoxin Aktivität (EA) ist bei dieser Untersuchung zwischen dem Geschlecht der Patienten ($p=0,87$), Grund der Dialysepflichtigkeit ($p=0,47$) und ob Restdiurese vorhanden ist ($p=0,40$, jeweils durch T-Test) nicht zu unterscheiden. Ebenso spielen das Alter ($r=0,08$, $p=0,67$) und die Dauer der Dialysepflichtigkeit ($r=-0,12$, $p=0,55$, jeweils durch Pearson) keine Rolle auf die Höhe der EA.

Korrelationen der erhobenen Parameter zum EA-Wert, jeweils durch Pearson.

Ergebnisse

		r-Wert	p-Wert
Alter		0,08	p=0,67
Dauer der Dialysepflichtigkeit		-0,12	p=0,55
Immunologische Parameter	CRP	-0,19	p=0,31
	Leukozytenanzahl	0,21	p=0,21
Retentionsparameter	Kreatinin	0,23	p=0,21
	Harnstoff	0,15	p=0,43
Klinische Laborparameter	Hämoglobin	0,16	p=0,39
	Albumin	0,17	p=0,37
Laborexperimentelle Parameter	HLA-Aktivität	-0,11	p=0,57
	CD14+ Monozyten	0,25	p=0,18
	CD14-Aktivität	-0,32	p=0,10

In Zusammenschau mit anderen klinischen Routine-Parametern bleibt festzuhalten, dass die EA-Werte weder mit den Infektparametern CRP ($r=-0,19$, $p=0,31$), Leukozytenanzahl ($r=0,21$, $p=0,21$), den Retentionswerten Kreatinin ($r=0,23$, $p=0,21$) und Harnstoff ($r=0,15$, $p=0,43$), noch mit den allgemeinen Laborwerten Hämoglobin- ($r=0,16$, $p=0,39$) und Albumingehalt ($r=0,17$, $p=0,37$, jeweils durch Pearson) in einen signifikanten Zusammenhang gebracht werden können.

Zu den anderen laborexperimentellen Werten lassen sich ebenfalls keine signifikanten Korrelationen feststellen. So stehen die HLA-DR-Aktivität ($r=-0,11$, $p=0,57$), die Anzahl der CD14-positiven Monozyten ($r=0,25$, $p=0,18$) als auch die CD14-Aktivität der Monozyten ($r=-0,32$, $p=0,10$, jeweils durch Pearson) in keinem signifikanten Verhältnis zur EA.

Die Dauer der Dialysesitzung selbst bringt unterschiedliche Ergebnisse zum EA-Wert zu Tage. Die Dauer der 1. Dialyse-Sitzung lässt sich in signifikant zu den EA-Werten in Verbindung setzen ($r=-0,454$, $p=0,01$, Pearson), nicht jedoch zur zweiten Dialyse-Sitzung ($r=-0,20$, $p=0,28$). Die Höhe des Volumen-Entzugs hat keine Beziehung zu den EA-Werten ($r=0,34$, $p=0,82$). Ebenso können die Vitalparameter der Patienten, wie Blutdruck und Puls und deren jeweiligen Veränderungen im Laufe der Dialyse-Sitzung nicht signifikant mit der Höhe der EA miteinander korreliert werden.

Die Endotoxin-Aktivität ist bei diesen untersuchten Patienten als normal einzustufen. Bei einem Cut-off von 0,39, bis zum dem die Werte des EAA als normal gelten, legen die gemessenen EAA-Werte der Dialysepatienten nahe, dass sie sich immunologisch in einem stabilen Bereich befinden. Die drei Einzelmessungen, die im Vergleich mit den anderen Messergebnissen der Dialyse-Patienten als

Ausreißer gelten, befinden sich auf Höhe bzw. nur geringfügig über der Grenze zwischen normalen und intermediären EAA-Werten. Kein Einzelwert liegt im hohen EAA-Bereich. Da alle Patienten klinisch keinerlei Zeichen eines akuten Infekts aufwiesen, noch sonstige außergewöhnliche Beschwerden bezüglich der anderen Begleit- und Grunderkrankungen angaben, spiegeln die niedrigen EAA-Werte zum Messzeitpunkt der Teilstudie einen immunologisch stabilen Zustand wider. Es lässt sich daher auch ableiten, dass das EAA bei stabilen Patienten eine sehr geringe Rate an falsch positiven Werten im Sinne einer hohen Spezifität zu haben scheint. Eine genaue Bestimmung der Spezifität verbietet sich jedoch aufgrund des fehlenden Datenumfangs, sowie der kleinen Studiengruppe.

4.2. Studienarm B: Immunomonitoring bei Nierentransplantations-Patienten

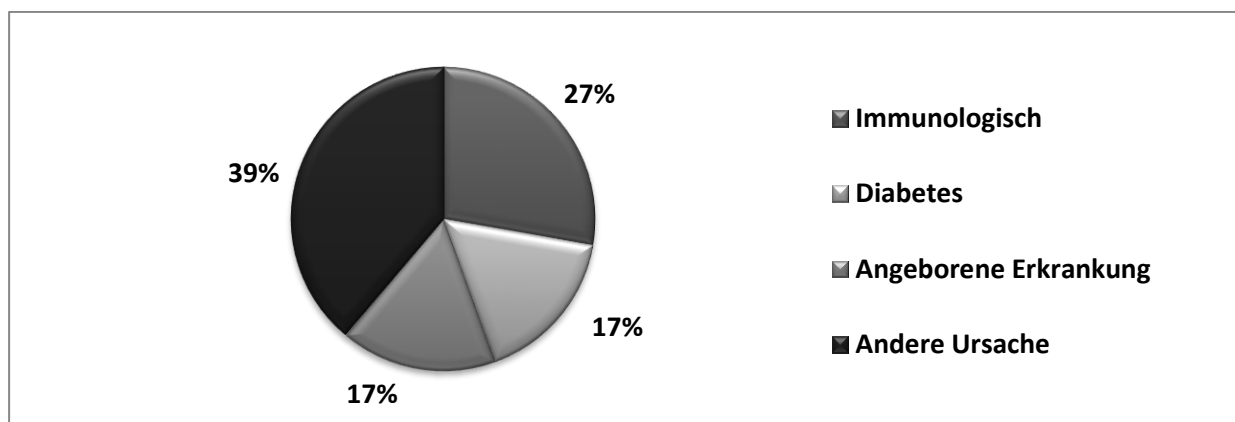


Abbildung 12: Renale Grunderkrankungen der Transplantations-Patienten.

Die Einteilung der renalen Grunderkrankungen der transplantierten Patienten erfolgte nach dem gleichen Schema und ergab ein ähnliches Bild bezüglich der renalen Grunderkrankung wie bei den Dialysepatienten mit 27% (n=5) für immunologische, 17% (n=3) für Diabetes als Ursache, 17% (n=3) für angeborene Erkrankungen und 39% (n=7) der Patienten mit sonstigen Gründen für ihre Dialysepflichtigkeit.

Einteilung der Patienten nach EAA-Bereichen			
Patienten-ID	Anzahl & Anteil der EAA-Messungen in den unterschiedlichen Bereichen		Einteilung der Patienten in Gruppe
	Niedrig	Erhöht	
			Erhöht Niedrig

	N	%	n	%	Quotient	
1	13	87%	2	13%	0,15	A = Low Risk
2	10	83%	2	17%	0,20	A = Low Risk
3	8	42%	11	58%	1,38	B = High Risk
4	10	83%	2	16%	0,20	A = Low Risk
5	12	92%	1	8%	0,08	A = Low Risk
6	1	50%	1	50%	1,00	A = Low Risk *
7	12	86%	2	14%	0,17	A = Low Risk
8	14	78%	4	22%	0,29	A = Low Risk
9	9	82%	2	18%	0,22	A = Low Risk
10	6	50%	6	50%	1,00	B = High Risk
11	9	75%	3	25%	0,33	A = Low Risk
12	7	78%	2	22%	0,29	A = Low Risk
13	10	83%	2	16%	0,20	A = Low Risk
14	5	38%	8	62%	1,60	B = High Risk
15	9	90%	1	10%	0,11	A = Low Risk
16	4	44%	5	56%	1,25	B = High Risk
17	4	40%	6	60%	1,50	B = High Risk
18	0	0%	7	100%	∅ mgl.	B = High Risk**

Tabelle: 3: Einteilung der Transplantations-Patienten in EAA-Bereiche. Hierfür werden die EAA-Werte in 3 Bereiche eingegliedert. Es wird ein Verhältnis aus der Summe der Messwerte im mittleren und hohen Bereich in Verhältnis zu den Messergebnissen aus dem niedrigen Bereich zueinander gesetzt. Ist dieser Quotient größer / gleich 1, wird der Patient der Gruppe B zugeordnet, sonst in Gruppe A.

*Bei Patientin Nr. 6 konnten aufgrund einer ausgeprägten Anämie nur zwei Laborproben gewonnen werden. Die beiden Werte lagen mit 0,39 & 0,43 nahe zusammen, dennoch aufgrund der festgelegten Definition in zwei unterschiedlichen Bereichen (niedrig und intermediär). Um sie dennoch statistisch sinnvoll mit auswerten zu können wird sie daher entgegen des ermittelten Quotienten und auch aufgrund ihres klinisch inapparenten Verlaufs in die größere Low Risk Gruppe mit einsortiert.

** Bei Patient Nr. 18 wurde kein EAA-Wert im niedrigen Bereich gemessen, ein Quotient zu bilden ist daher mathematisch nicht möglich. Aufgrund der hohen gemessenen Werte wird der Patient sinnvollerweise der High Risk Gruppe zugeordnet. Es ergibt sich eine Anzahl in Gruppe A von n=12 und Gruppe B von n=6.

4.2.1. Deskriptive Statistik

Teilstudie B: Nieren-Transplantation (Alle Werte als Median ± SD)	± SD	Gruppe A Low Risk	Gruppe B High Risk	p-Wert
--	------	----------------------	-----------------------	--------

Ergebnisse

Anzahl n	18		12	6	
Weiblich	4 (22%)		4	-	0,12
Alter	54,8 (20,2 – 70,7)	15,1	52,8	59,4	0,58
Trockengewicht (kg)	74,1 (46,0 – 94,0)	13,2	74,4	71,9	0,90
BMI (kg/m ²)	24,0	3,3	24,2	22,6	0,78
CIRS-Score	18,0	5,4	15,5	19,5	0,08
Initialer Hb-Wert (g/dl)	11,5	1,6	11,3	11,8	0,88
Patienten mit Rest-Ausscheidung	7 (39%)		6	1	0,19
Dauer Dialyse-Behandlung	3,9 (0,3 – 17,5)	4,5	3,9	4,5	0,64
Hämodialyse / Peritonealdialyse	17 / 1				
OP-Dauer (min)	188,5 (73 – 322)	66,4	185	196	0,67
ABO-kompatibel / inkompatibel	14 / 4		3	1	0,71
Kalte Ischämiezeit (min)	820 (120 – 1400)	469	820	810	0,55
Alter der Spender	54,7 (25 – 75)	21,1	54,7	56,0	0,79
Leichen vs. Lebendspende	14 / 4		3	1	0,71
Durchschnittliche KH Verweildauer (Tage)	20,5 (7 – 42)	9,9	20,5	20,5	0,88

Tabelle: 4: Patienten-Charakteristika der Studien-Patienten nach EAA-Gruppen A und B aufgeteilt.

Bei näherer Betrachtung der Patienten-Charakteristika fällt auf, dass keine wesentlichen Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen bestehen. Einzig der CIRS-Score lässt eine Tendenz zu einem etwas erhöhten Score-Punkten der Gruppe B (High Risk) Patienten erkennen, der jedoch nicht statistisch signifikant ist ($p=0,08$). Ebenso besteht die Gruppe B rein aus Männern, aufgrund der geringen Teilnehmerzahlen ist dies ebenfalls im Rahmen dieser Betrachtung nicht statistisch signifikant verwertbar. Bis auf eine Ausnahme befinden sich alle Patienten mit einer vorhandenen Restausscheidung in der Low Risk Gruppe. Alle anderen Maße sind zwischen beiden Gruppen statistisch nicht voneinander zu unterscheiden.

4.2.2. Übersicht klinischer Verlauf und Ergebnisse

Patient-ID	Alter	Tx-Abstoßung	Tx-Versagen	Gruppe EAA-Wert	Details zum post-OP Verlauf
------------	-------	--------------	-------------	-----------------	-----------------------------

1	67,9	♀	✓	∅	Low Risk	Nach primär komplikationslosem Verlauf, erneute Aufnahme 1 Woche nach Entlassung mit akuter Transplantat-Abstoßung (post-OP Tag 20) & Lymphozelen-Spaltung (Tag 20)
2	62,5	♂	∅	∅	Low Risk	Komplikationsloser Verlauf
3	65,5	♂	✓	✓	High Risk	Transplantat-Abstoßung (Tag 6), Entwicklung Urosepsis und MODS mit Tod post-OP Tag 40
4	49,4	♂	∅	∅	Low Risk	Komplikationsloser Verlauf
5	70,7	♂	∅	∅	Low Risk	Supportive Dialyse nach Tx, Platzbauch-Revision (Tag 8)
6	20,2	♀	∅	∅	Low Risk	Rez. Bluttransfusion bei starker Anämie, sonst komplikationsloser Verlauf
7	56,2	♂	∅	∅	Low Risk	Thrombektomie Pankreasvene (Tag 5), rez. EK-Gabe
8	37,0	♀	✓	✓	Low Risk	Transplantatektomie (Tag 1), 2. Transplantation (Tag 17)
9	45,5	♀	∅	∅	Low Risk	Komplikationsloser Verlauf
10	65,9	♂	✓	✓	High Risk	Thrombektomie (Tag 2), durchgehende Dialyse bei Tx-Versagen, Transplantat-Explantation (Tag 26) mit Revisions-OP's
11	68,1	♂	∅	∅	Low Risk	Komplikationsloser Verlauf
12	64,0	♂	∅	∅	Low Risk	Dünndarm-Adhäsionolyse (Tag 9), sonst komplikationsloser Verlauf
13	30,8	♂	✓	∅	Low Risk	Einmaliger Nachweis einer Tx-Abstoßungsreaktion, sonst komplikationsloser Verlauf
14	47,9	♂	✓	✓	High Risk	Akutes Transplantat-Versagen.
15	45,3	♂	∅	∅	Low Risk	Explorative Laparotomie bei v.a. akutem Abdomen ohne Nachweis einer Pathologie (Tag 12)
16	34,1	♂	∅	∅	High Risk	Komplikationsloser Verlauf
17	53,4	♂	∅	∅	High Risk	Relaparotomie bei Ileus (Tag 3)
18	68,5	♂	✓	✓	High Risk	Transplantat-Versagen mit Transplantatektomie (Tag 2)

Tabelle: 5: Zusammenfassung des klinischen perioperativen Verlaufs der Studienpatienten.

Bei 5 der 6 Patienten der Gruppe B (High Risk) kam es zu teilweise schwerwiegenden Komplikationen im perioperativen Verlauf. Bei Patient Nr. 14 und 18 kamen durch ein akutes Transplantatversagen zu keinem Zeitpunkt eine Eigendiurese zustande, bei Patient 10 entwickelte sich das Transplantatversagen im Verlauf und führte schließlich zur Nierenexplantation. Bei Patient 8 musste das erste Transplantat bei schwerwiegenden Abstoßungs-Reaktionen und schwierigen lokalen Durchblutungssituationen wieder explantiert werden. Nach erneuter zweiter Transplantation konnte die neue Niere in situ belassen werden und zeigte im weiteren Krankenhaus-Aufenthalt eine stabile Funktion mit gewünschten Ausscheidungsmengen. Bei Patient 17 kam es zu einem akuten mechanischen Ileus, das mittels einer notfallmäßigen Relaparotomie behoben werden musste. Patient 3 entwickelte aus einer Abstoßungs-Reaktion heraus ein generalisiertes Multiorganversagen, das in

den Tod des Patienten mündete. Aus der High Risk Gruppe zeigte einzig Patient 16 trotz erhöhter EAA-Werte einen klinisch komplikationslosen Verlauf.

4.2.3. Auswertung der Ergebnisse des Endotoxin Activity Assays

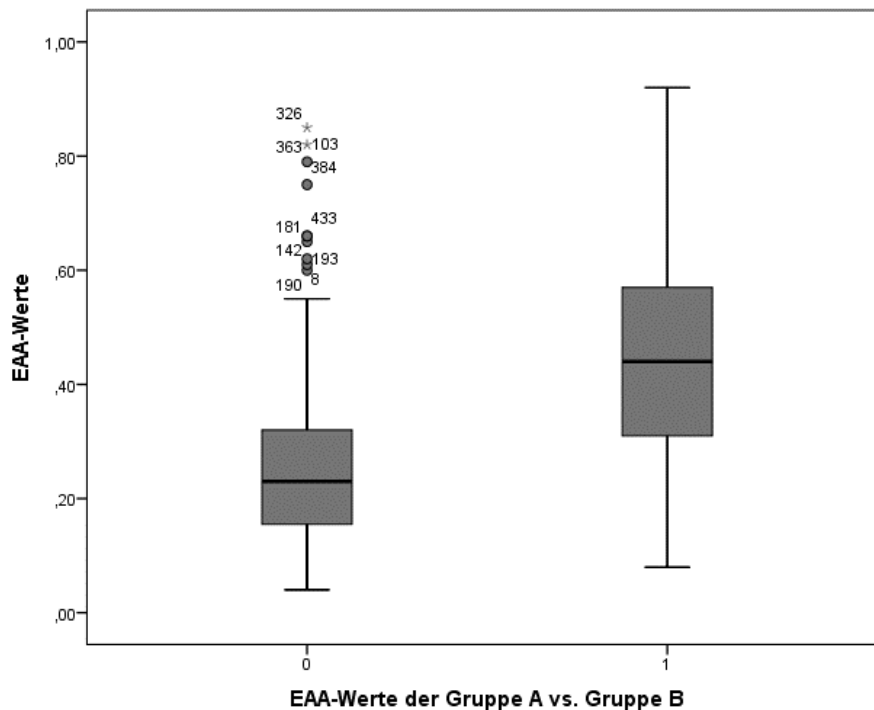


Abbildung 13: Verteilung der EAA-Werte zwischen Low Risk Gruppe A (links) und High Risk Gruppe B. $p < 0,0001$

Betrachtet man sich die Verteilung aller gemessenen EAA-Werte, so zeigt sich, dass sich die EAA-Werte der High Risk Gruppe auf einem signifikant höheren Niveau im Vergleich zur Low Risk Gruppe bewegen. So liegt der EAA-Mittelwert über alle Messpunkte hinweg in der Low-Risk-Gruppe bei 0,2669, hingegen der Mittelwert der High-Risk-Gruppe bei 0,4461 ($p < 0,0001$).

Vielmehr als die absolute Verteilung der EAA-Werte ist jedoch die Bedeutung über den zeitlichen Verlauf in der peri- und postoperativen Phase (siehe hierzu Abbildung 14). Hierbei zeigt sich, dass sich das arithmetische Mittel der High Risk Gruppe praktisch nur über dem Grenzwert von 0,40 für den intermediären Bereich bewegt, während sich das arithmetische Mittel der Low Risk Gruppe sich durchgehend im niedrigen Bereich aufhält.

Werden die gemessenen Tageswerte der Studienpatienten über den ersten 10-Tages-Zeitraum direkt miteinander verglichen, so zeigt sich hier erneut ein erwarteter signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studiengruppen.

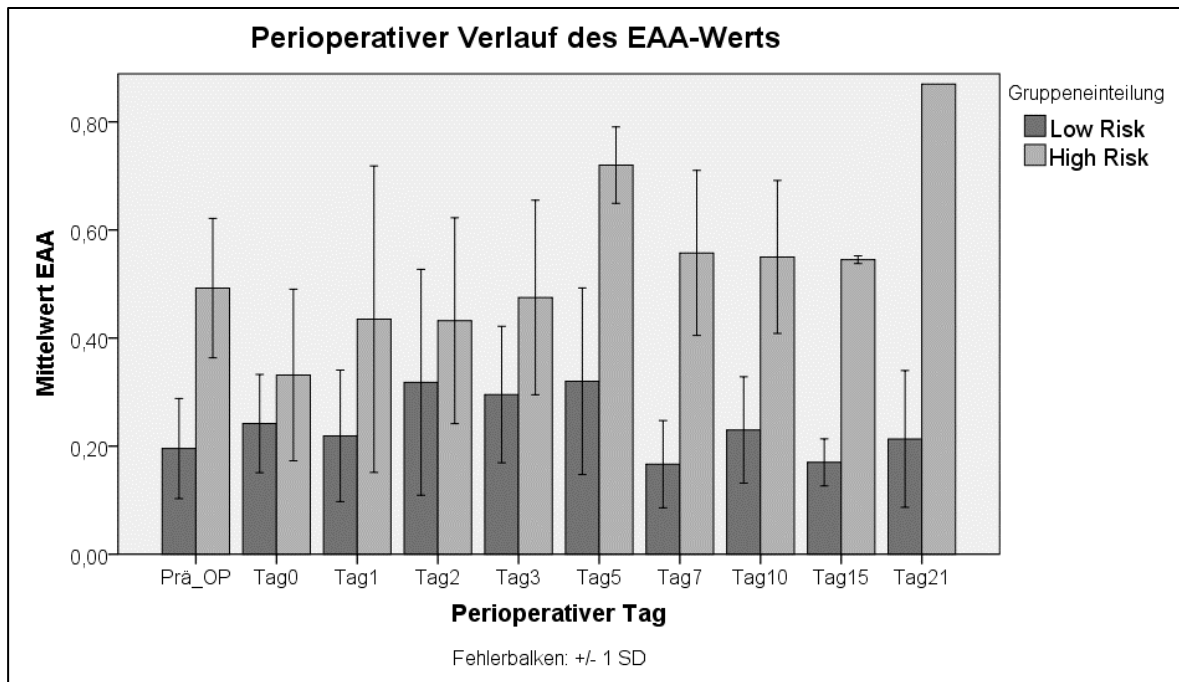


Abbildung 14: EAA-Mittelwerte nach Low (grün) und High Risk Gruppe (rot) aufgeteilt über den zeitlichen Verlauf in der perioperativen Phase. $p < 0,00001$.

Betrachtet man die perioperativen Werten, so ist auffällig, dass bereits zum ersten Messpunkt – also noch vor der Nierentransplantation selbst - sich die EAA-Werte beider Studiengruppen signifikant voneinander unterscheiden (0,20 vs. 0,49, $p=0,01$). Die weiteren postoperativen Werte zeigen zunächst direkt im Anschluss der OP keinen signifikanten Unterschied (0,24 vs. 0,40, $p=0,09$). Gleiches gilt für sowohl für den 1. postoperativen Tag (0,27 vs. 0,43, $p=0,09$) und den 2. postoperativen Tag (0,33 vs. 0,44, $p=0,25$). Ab dem 3. Post-OP Tag wiederum lässt sich ein signifikanter Unterschied feststellen (0,32 vs. 0,55, $p=0,02$), ebenso für die weiteren Tage (Tag 5: 0,29 vs. 0,52, $p=0,003$ / Tag 7: 0,15 vs. 0,52, $p < 0,001$ / Tag 10: 0,23 vs. 0,47, $p=0,04$).

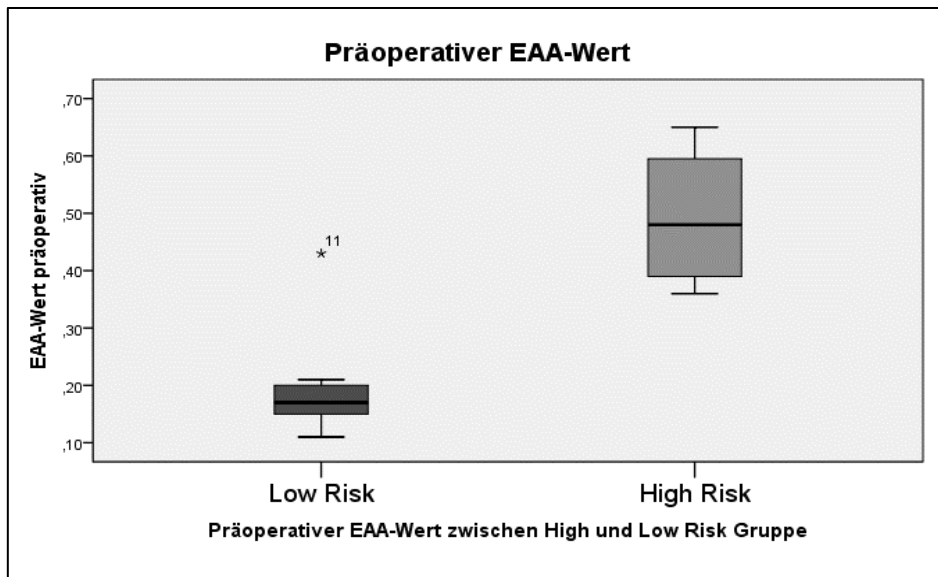


Abbildung 15: Präoperativer EAA-Wert von Low (grün) und High Risk Gruppe (Rot). $p=0,03$

Bereits vor der Nierentransplantation weisen die Patienten aus der High Risk Gruppe einen deutlich erhöhten EAA-Wert von 0,49 im direkten Vergleich zu den 0,20 der Low Risk Gruppe ($p=0,01$).

4.2.4. Auswertung klinischer Nierenfunktion

Bei keinem der Patienten kam es zu einem akuten Harnwegsinfekt mit Fieber während des stationären Aufenthaltes. Alle Patienten haben als Prophylaxe Cotrimoxazol 960mg Mo – Mi – Fr 1x tgl. erhalten.

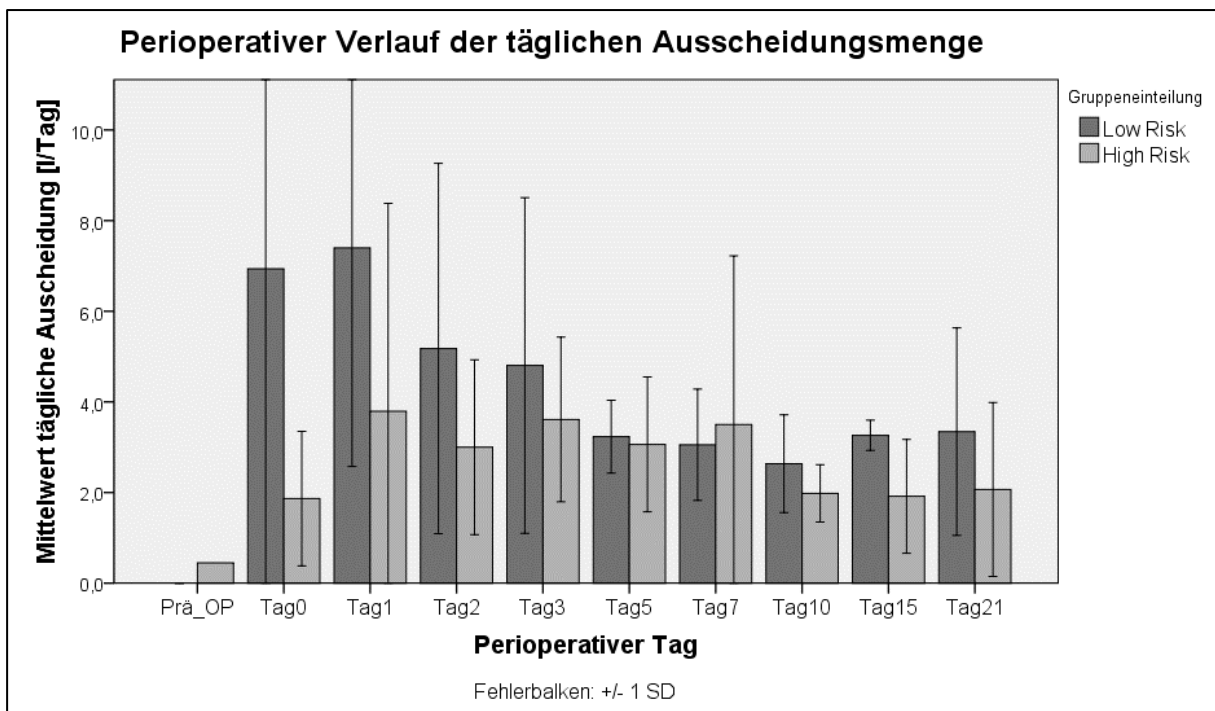


Abbildung 16: Entwicklung der täglichen Ausscheidungsmenge in Liter pro Tag zwischen der Low Risk und der High Risk Gruppe im Verlauf der stationären Behandlung, $p < 0,0001$.

Betrachtet man sich die gemessene Ausscheidung der beiden Patientengruppen, so zeigt sich ein hochsignifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) zwischen den beiden Gruppen. In der Low Risk Gruppe zeigt sich nach der Transplantation zunächst durch standardmäßige postoperative Gaben von Schleifendiuretika eine polyurische Phase mit einer zunehmenden Normalisierung der ausgeschiedenen Urinmenge. In der High Risk Gruppe fehlt dieser initiale Anstieg, um dann auch im Verlauf der stationären Behandlung unterhalb der Low Risk Gruppe zu bleiben.

4.2.5. Auswertung laborchemischer Nierenfunktion

In der Darstellung der klinischen Laborparameter wird sich auf die im Rahmen der Studie wichtigen Laborwerte fokussiert: Zum einen soll mittels der Surrogat-Parameter Kalium, Kreatinin und Harnstoff auf die Filtrationsleistung der transplantierten Nieren rückgeschlossen werden. Die Werte Leukozytenanzahl, CRP-Konzentration, IL-6-Spiegel und PCT-Werte spiegeln die infektiologische Situation der Patientengruppen wider.

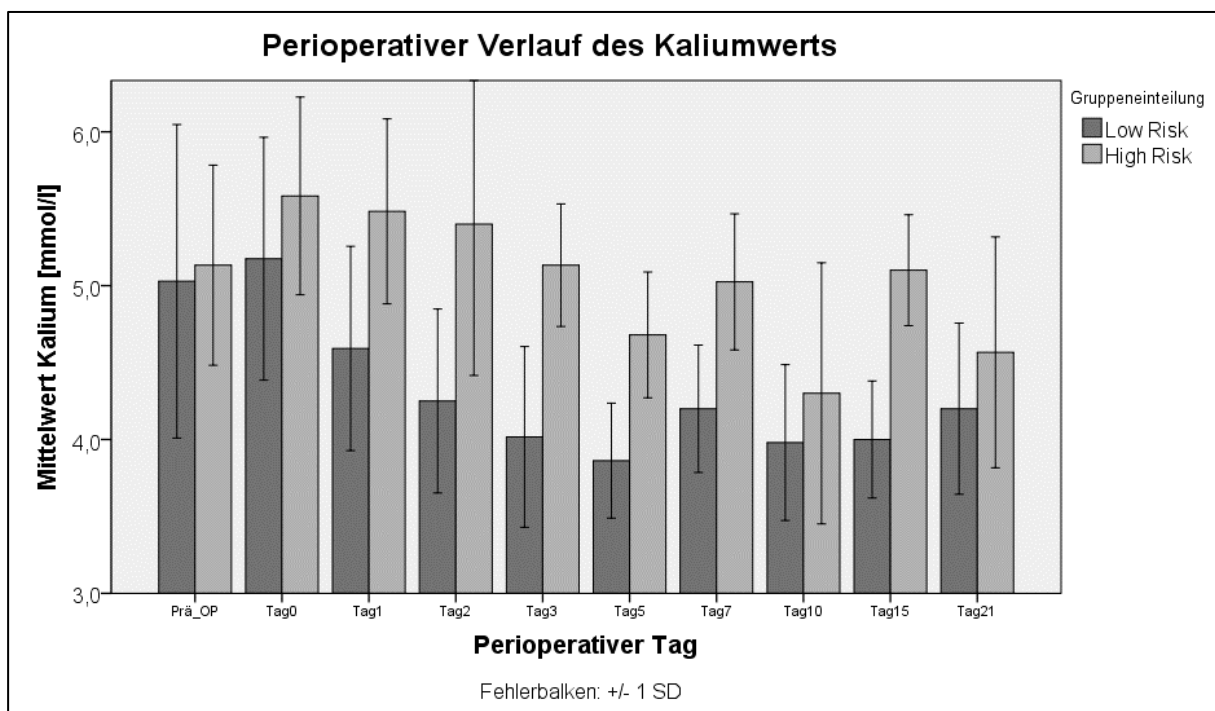


Abbildung 17: Kaliumwert im perioperativen Verlauf zwischen High und Low Risk Gruppe, $p < 0,00001$.

Die ermittelten Kaliumwerte beider Gruppen liegen präoperativ zunächst nicht voneinander unterscheidbar beisammen, um dann postoperativ signifikant zu divergieren. Dabei liegt der Mittelwert der Kaliumwerte in der Gesamtheit aller Messungen in der High Risk Gruppe durchweg höher im Vergleich zur Low Risk Gruppe ($p < 0,00001$).

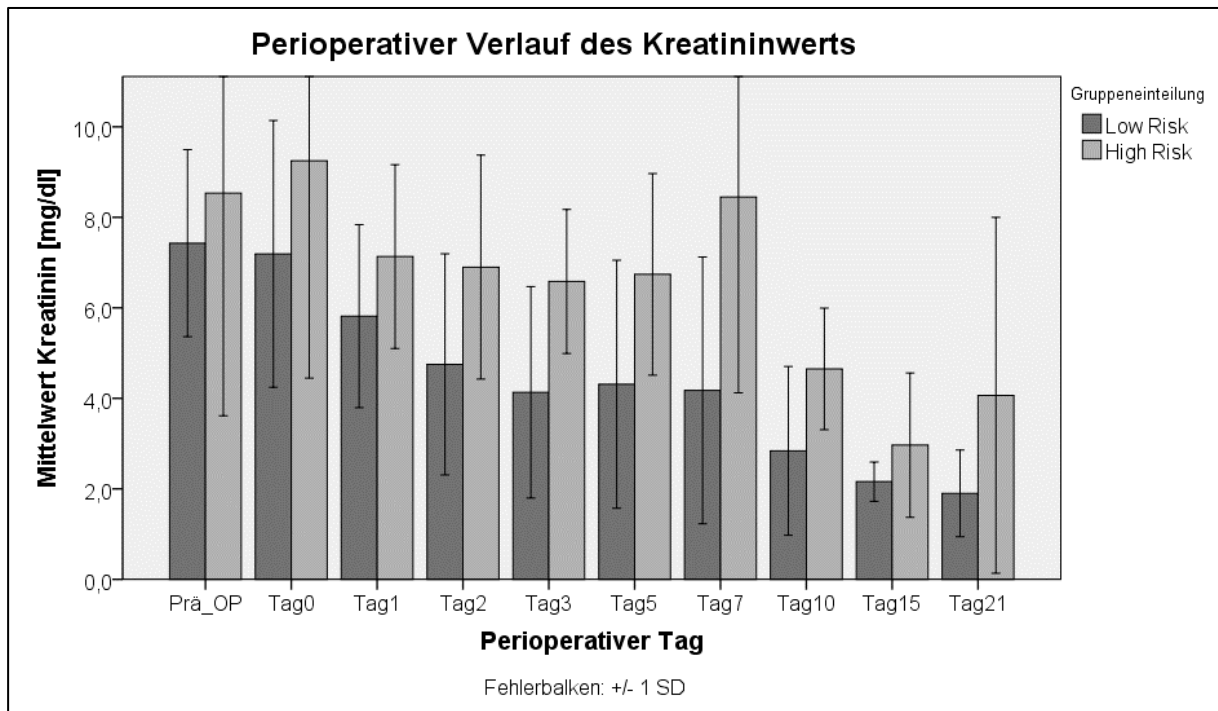


Abbildung 18: Kreatininwert im perioperativen Verlauf zwischen High und Low Risk Gruppe, $p < 0,00001$.

Die Kreatininwerte als Marker für die einsetzende postoperative Nierenfunktion starten von einem zunächst vergleichbar hohen Niveau (7,4 vs. 8,5 mg/dl, $p = 0,61$), mit geringer Tendenz zu höheren Werten in der High Risk Gruppe. Dies gilt sowohl für die Gesamtheit aller Messungen als auch für fast alle der direkten täglichen Vergleiche. Während die Low Risk Gruppe eine deutliche Tendenz zu verringerten Werten im Sinne einer wieder normalisierten Nierenfunktion zeigt, bleibt der Kreatininwert in der High Risk Gruppe im direkten Vergleich erhöht ($p < 0,001$).

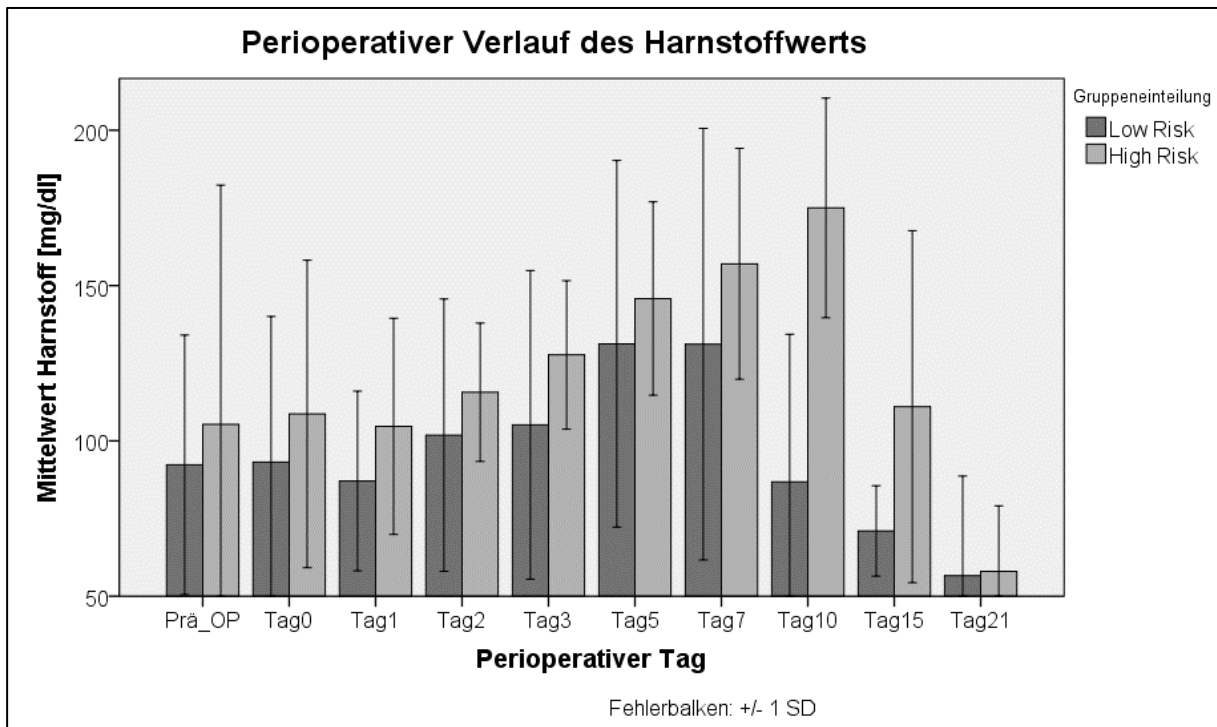


Abbildung 19: Entwicklung der Harnstoffwerte im perioperativen Verlauf der High Risk im Vergleich zu Low Risk Gruppe, $p < 0,00001$.

Analog zu Beobachtungen des Kreatininwerts gilt ähnliches für den perioperativen Verlauf des Harnstoffwerts. Auch hier liegt das Ausgangslevel präoperativ nicht voneinander unterscheidbar nahe zusammen ($p=0,73$). Zunächst kommt es in beiden Gruppen zu einem relativen Anstieg, um dann in der Low Risk Gruppe auch statistisch signifikant abzusinken. Hingegen bleibt auch der Harnstoffwert in der High Risk Gruppe erhöht ($p < 0,001$ über gesamten beobachteten Zeitraum).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die aufgrund erhöhter EAA-Werte eingeteilte Studienpatienten in der High Risk Gruppe ein funktionell schlechteres Outcome in ihrer Nierenfunktion im Vergleich zur Low Risk Gruppe aufweisen.

Weitere klinische Laborwerte, wie beispielsweise Hb-Wert, Thrombozytenanzahl oder LDH-Spiegel bestätigen auch statistisch signifikant die Tendenz zu ungünstigeren Werten für die High Risk Gruppe im Vergleich zur Low Risk Gruppe.

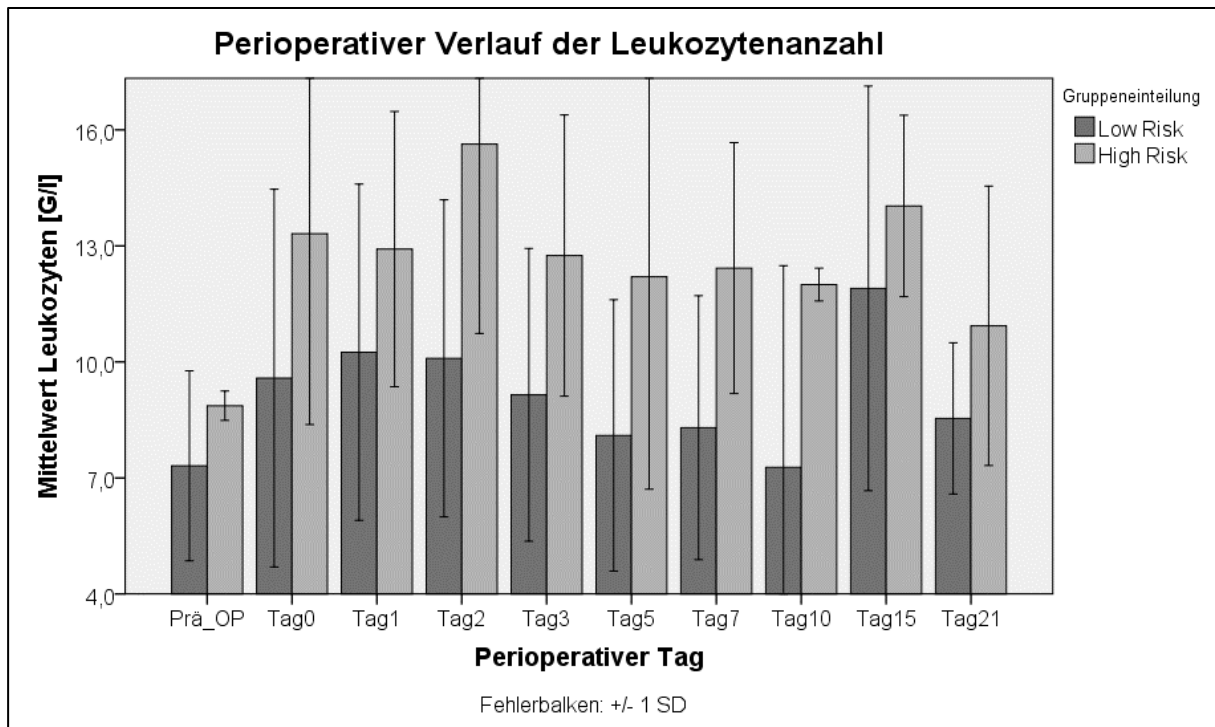


Abbildung 20: Perioperativer Verlauf der Leukozyten zwischen Low und High Risk Gruppe, $p < 0,00001$.

Bei der Betrachtung der klinischen Surrogat-Parameter für den inflammatorischen Zustand der Patienten lässt sich für die Leukozytenanzahl festhalten, dass auch hier aus einem ähnlichen Ausgangsniveau sich eine auch statistisch nachweisbare Trennung zu einer erhöhten Leukozytenanzahl der High Risk Gruppe im Vergleich zur Low Risk Gruppe einstellt ($p < 0,001$). Dabei ist im Gegensatz um EAA-Wert die präoperative Leukozytenanzahl nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen unterschiedlich (7,3 G/l vs. 8,9 G/l, $p = 0,32$).

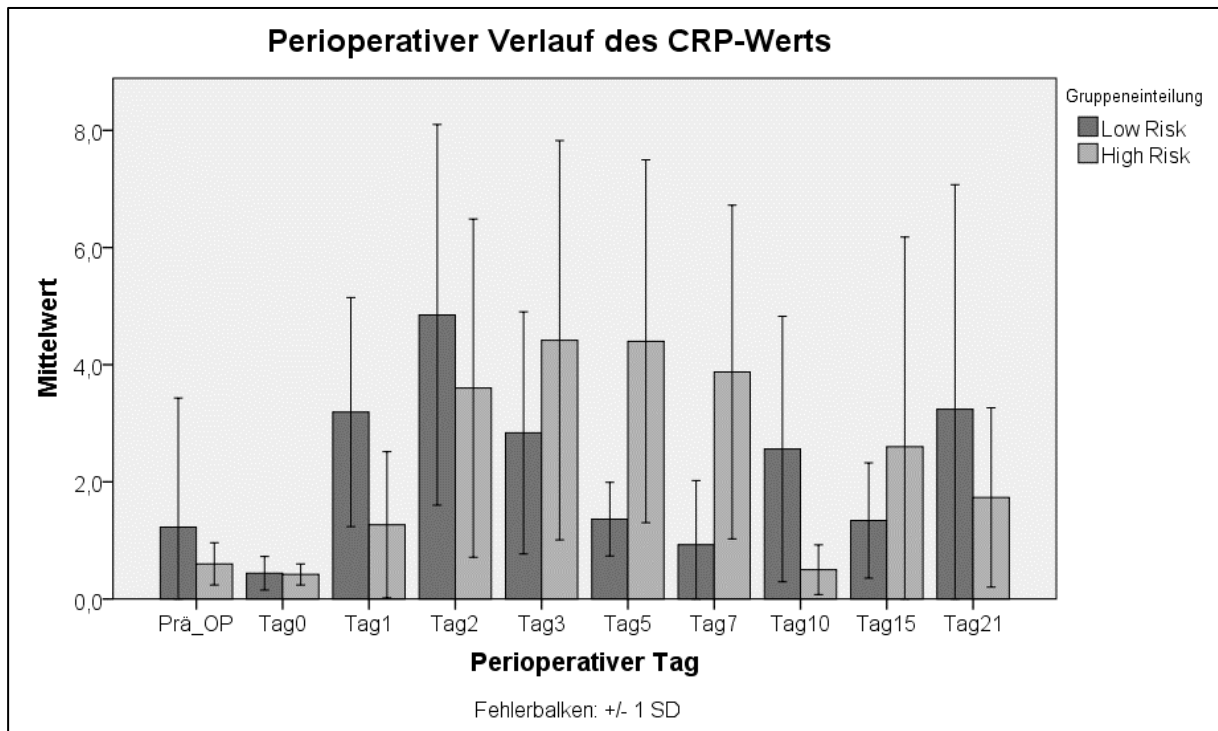


Abbildung 21: CRP-Wert im perioperativen Verlauf zwischen Low und High Risk Gruppe unterschieden, $p < 0,00001$.

Die gemessenen CRP-Spiegel können bei recht uneinheitlichen Verläufen nur vorsichtig interpretiert werden. Es zeigt sich über beide Gruppen nahezu über den gesamten beobachteten Zeitraum eine hohe Standardabweichung der Werte. Es lässt sich dennoch festhalten, dass sich in der Low Risk Gruppe ein zu erwarteter CRP-Anstieg in den ersten 3 postoperativen Tagen einstellt, um danach etwas abzuklingen. Dieser Anstieg hält in der High Risk Gruppe über einen längeren postoperativen Zeitraum an ($p < 0,001$ über gesamten Zeitraum hinweg). Vor der OP sind beide Gruppen nicht signifikant voneinander zu unterscheiden (0,6 vs. 1,2, $p = 0,65$). An den letzten beiden Tagen verzerren sich die Mittelwerte bei abnehmenden Messungen und hoher Standardabweichung.

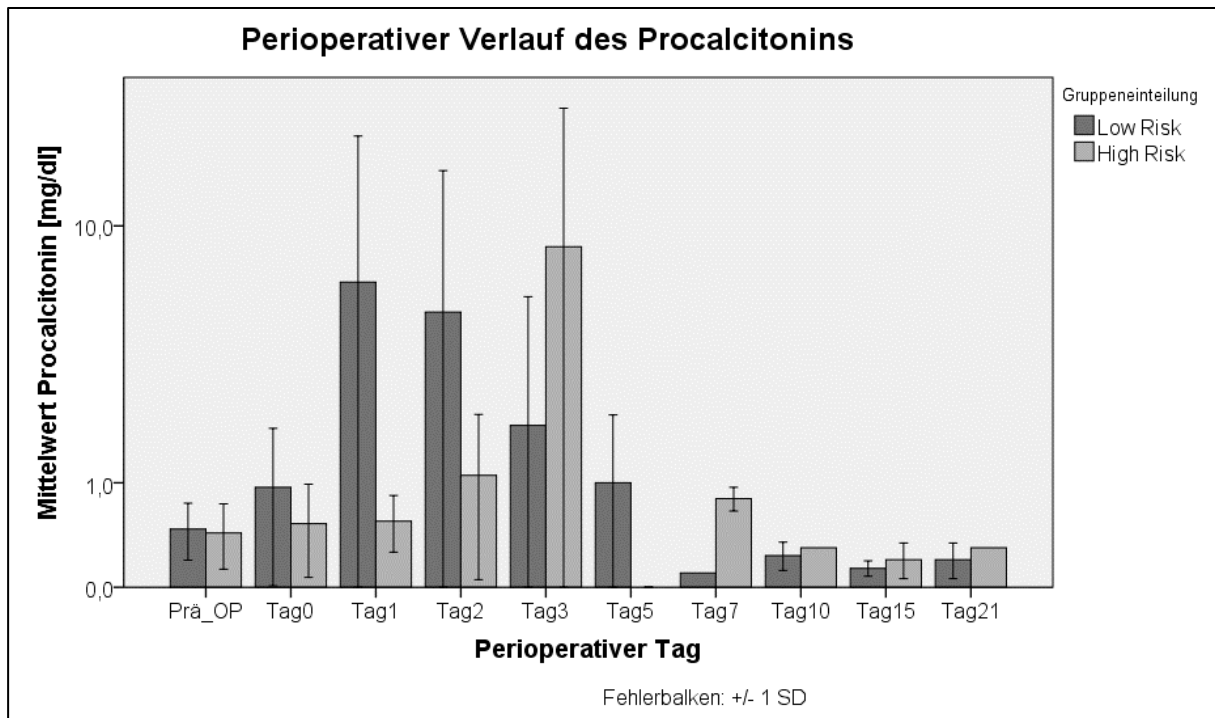


Abbildung 22: Procalcitonin-Wert im perioperativen Verlauf zwischen Low und High Risk Gruppe unterschieden, $p=0,963$.

Aus dem Verlauf des Procalcitonins lassen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen ableiten. Aufgrund der verringerten Probenanzahl, da das PCT nicht bei jeder Blutabnahme mitbestimmt wurde, ergibt sich eine große Standardabweichung. Dies ergibt in der Summe eine nicht sinnvoll interpretierbare Unterscheidung zwischen den beiden Studiengruppen ($p=0,95$ über gesamten Zeitraum).

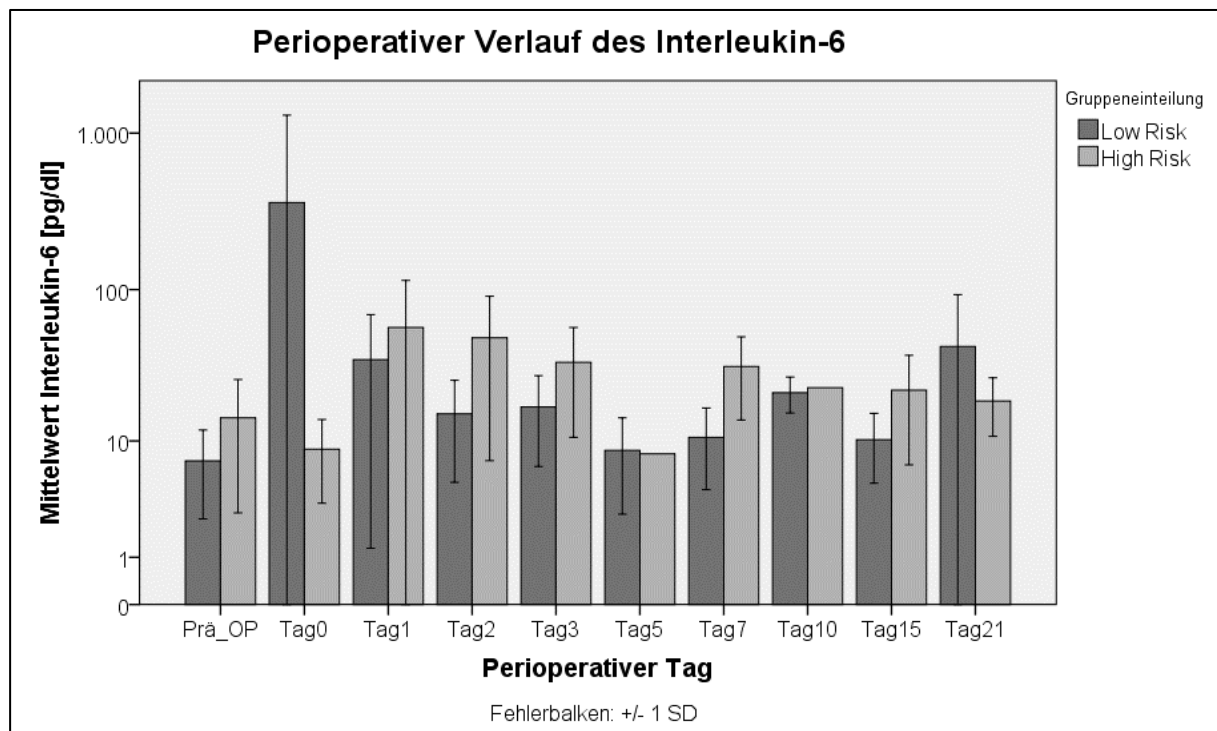


Abbildung 23: IL-6 – Wert im perioperativen Verlauf zwischen Low und High Risk Gruppe unterschieden. Die Skala ist logarithmisch angegeben, $p=0,105$.

Ähnlich zum PCT können aus den vorhandenen Messungen des Interleukin-6 keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen beiden Studiengruppen ermittelt werden. Es lässt sich allenfalls eine Tendenz zu erhöhten Werten in der High Risk Gruppe ableiten. Auch hier ist der vermeintliche Anstieg in der High Risk Gruppe ab Tag fünf zum Ende des Beobachtungszeitraums auf das beginnende Multiorganversagen eines Patienten zu erklären ($p=0,11$).

Weitere klinische Marker einer Akuten-Phase-Reaktion, wie das Antithrombin-3, Ferritin und Transferrin-Spiegel zeigen auch eine statistisch signifikante Tendenz zu ungünstigeren Werten für die High Risk Gruppe im Vergleich zu Low Risk Gruppe. Auf eine ausführliche Darstellung wird aufgrund fehlender Relevanz im Rahmen dieser Studienfrage verzichtet.

4.2.6. Korrelations-Analyse

Es wurde die bivariate Korrelation zwischen den EAA-Werten aller Patienten und klinischen Parametern untersucht:

Korrelation des EAA-Wertes mit relevanten Patienten-Charakteristika						
	Alle Patienten		Gruppe A Low Risk		Gruppe B High Risk	
	r	P	r	p	r	p
Trocken- Gewicht	-0,142	*0,040	-0,212	*0,012	0,053	0,665
Ausscheidung	-0,031	0,720	-0,007	0,949	0,154	0,318
Vorangegangene Dialyse-Dauer	-0,87	0,227	-0,185	*0,038	-0,035	0,776
Länge KH- Aufenthalt	0,175	*0,011	0,212	*0,012	-0,120	0,324
OP-Dauer	-0,051	0,458	0,032	0,703	-0,118	0,329
Ischämie-Zeit	-0,004	0,960	-0,077	0,379	-0,029	0,811

Die Untersuchung zwischen klinischen Verlaufsparemeters und den EAA-Werten lässt erkennen, dass es keine wesentlichen Korrelationen zwischen den täglich erhobenen Vitalparametern, Patientendaten, OP-Merkmalen und den EAA-Werten gibt. Die statistisch signifikante negative Korrelation zwischen dem Gewicht der Patienten und dem EAA-Wert ergibt sich aus der Tatsache, dass alle vier Frauen, mit ihrem leichteren Körpergewicht, der Low Risk Gruppe angehören. Zusammenfassend lässt sich daher sagen, dass sich keine bedeutungsvolle Beziehung zwischen vorhandenen Patienten-Charakteristika und den gemessenen EAA-Werten herstellen lässt. Im Umkehrschluss bedeutet dies auch, dass der EAA-Wert unabhängig von vorangegangenen Konditionen oder klinischen Verlauf ist und nur in immunologische Prozesse involviert ist.

Korrelation des EAA-Wertes mit klinischen Laborparametern						
	Alle Patienten		Gruppe A		Gruppe B	
	r	p	r	p	r	p
Kalium	0,098	0,177	-0,087	0,329	-0,230	0,063
Harnstoff	0,061	0,399	-0,120	0,179	0,049	0,692
Kreatinin	0,059	0,416	-0,116	0,192	-0,096	0,435
Leukozyten	0,159	*0,026	-0,017	0,845	0,104	0,395
CRP	0,154	*0,033	0,123	0,168	-0,029	0,815
Procalcitonin	0,103	0,223	0,068	0,514	0,064	0,663
IL-6	0,201	*0,014	0,073	0,479	0,041	0,776
Korrelation des EAA-Wertes mit experimentellen Laborparametern						

	Alle Patienten		Gruppe A		Gruppe B	
	r	p	r	p	r	p
Monozyten-Anzahl	0,056	0,449	0,094	0,296	0,080	0,554
CD14+ Monozyten	0,179	*0,015	0,079	0,378	0,257	0,054
CD45+ Monozyten	-0,002	0,979	-0,002	0,979	-0,051	0,705
CD14/CD45+ Monozyten	0,067	0,183	-0,033	0,715	0,176	0,191
HLA-DR Aktivität (geometr. Mittel)	-0,032	0,638	0,141	0,121	-0,089	0,510
CD14 Aktivität (geometr. Mittel)	0,099	0,186	0,097	0,290	-0,027	0,844
CD14 / HLA-DR+ Monozyten	-0,025	0,743	0,156	0,084	-0,046	0,731

Tabelle: 6: Bivariate Korrelation der EAA-Werte mit Patienten Vitalwerten und klinischen & experimentellen Laborwerten. Da nicht zuverlässig von einer Normal-Verteilung aller Daten ausgegangen werden kann, wird hier der Spearman-Korrelationskoeffizient hergenommen. *p<0,05

Die EAA-Werte lassen sich nur sehr vereinzelt mit weiteren verfügbaren Patienten- oder Laborwerten korrelieren. Während sich die EA aller Patienten mit den klassischen Entzündungswerten Leukozyten-Anzahl, CRP und IL-6 korrelieren lassen, ist dies separat bei den Einzelgruppen A und B nicht mehr der Fall. Mit allen anderen Werten aus den Bereichen der Nierenfunktion, Protein-Stoffwechsel und Akute-Phase-Reaktion, sowie den experimentellen Laborwerten sind keine signifikanten Korrelationen herstellbar.

Bei der allgemeinen Korrelationsanalyse (siehe Anhang) aller wichtigen Laborwerte zueinander fällt auf, dass die Entzündungswerte selbst sowohl untereinander, als auch mit den meisten anderen Laborwerten, mit denen die Nierenfunktion, Protein-Stoffwechsel oder Akute-Phase-Reaktion abgebildet werden, entweder in positiver oder negativer Korrelation signifikant zueinander stehen. Von den Akute-Phase-Proteinen sticht vor allem das Transferrin hervor, das sich mit nahezu allen anderen Werten signifikant negativ korrelieren lässt. Für die beiden Untergruppen A und B kommen für die Korrelationsanalyse dieser Parameter nahezu die gleichen Ergebnisse bezüglich Signifikanz und Höhe der Korrelation heraus.

Bei den experimentellen Laborwerten fällt auf, dass bis auf die Anzahl der CD14 positiven Monozyten keine relevanten Bezüge zur EA hergestellt werden können. Betrachtet man die experimentellen Werte mit den klinisch verfügbaren, so fällt auf, dass das CRP mit jedem experimentellen Wert

signifikant negativ korreliert ist. Das PCT, wie auch IL-6 ist ebenfalls noch mehrheitlich mit den genannten Werten negativ korreliert.

4.2.7. Lineare Regressions-Analyse

Mit der Regressions-Analyse wird versucht einen Zusammenhang mittels einer Regressionsgeraden zwischen dem neuen EAA-Wert und vorhandenen klinischen, wie auch experimentellen Werten zu ermitteln. Auf eine lineare Regression der klinischen Werte untereinander ist für die Beantwortung der Studienfrage nicht relevant und würde den Rahmen dieser Studie überschreiten.

	p-Wert	Regressions-Koeffizient	Standard-Fehler	Bestimmtheitsmaß R ²	
Leukozyten	*0,011	0,009	0,003	0,033	
Fibrinogen	*0,041	0,000	0,000	0,049	
	p-Wert		p-Wert	p-Wert	
Alter	0,355	Kalium	0,441	Monozyten-Anzahl	0,611
Ausscheidung	0,720	Harnstoff	0,400	CD14+ Monozyten	0,072
Vorangegangene Dialyse-Dauer	0,390	Kreatinin	0,829	CD45+ Monozyten	0,737
Länge KH-Aufenthalt	0,177	CRP	0,084	CD14/CD45+ Monozyten	0,366
OP-Dauer	0,114	Procalcitonin	0,612		
Ischämie-Zeit	0,937	IL-6	0,271		
		LDH	0,056	HLA-DR Aktivität (geometr. Mittel)	0,777
		Ferritin	0,113	CD14 Aktivität (geometr. Mittel)	0,126
		Transferrin	0,935	CD14 / HLA-DR+ Monozyten	0,271
		AT-III	0,574		

Tabelle: 7: Übersicht über die p-Werte bei der linearen Regressions-Analyse mit den EAA-Wert.

Bei der linearen Regression zeigt sich, dass bis auf die Größe und Gewicht (bei fehlender klinischer Relevanz nicht näher dargestellt), Leukozyten-Anzahl und Fibrinogengehalt im Blut kein anderer Einzelwert eine Veränderung der Endotoxin-Aktivität bei allen untersuchten Patienten hinreichend erklären kann. Anhand der Höhe der Regressionskoeffizienten, wie auch das geringe Bestimmtheitsmaß lassen erkennen, dass es sich nur um einen sehr geringen Einfluss zwischen der Leukozytenanzahl oder dem Fibrinogengehalt und den EAA-Werten handeln kann.

Separat durchgeführte Analysen mit für die jeweiligen Untergruppen A und B verfügbaren Werten ergeben ein ähnliches Bild ab. Auch hier kann die absolute Mehrzahl der erhobenen Werte nicht durch eine lineare Regression mit den EAA-Werten in eine sinnvolle Verbindung zueinander gebracht werden. Daher wird auf die Darstellung nicht signifikanter Ergebnisse der beiden Untergruppen verzichtet.

4.2.8. Multiple lineare Regressions-Analyse

Nimmt man die signifikanten Ergebnisse der linearen Regression und fasst sie zu sinnvollen Gruppen zusammen, so ergibt sich für die Leukozytenzahl und Fibrinogengehalt in der multiplen linearen Regression folgende Werte:

Gruppe	Bestehend aus	Einzelwert	Regressions-Koeffizient	Standard-Fehler	Bestimmtheitsmaß R^2	p-Wert
Entzündungswerte	Leukozyten & Fibrinogen	Leukozyten	0,014	0,005	0,124	0,009
		Fibrinogen	-0,001	0,000	0,103	0,014

4.2.9. Logistische Regressions-Analyse

Die logistische Regression berechnet die Wahrscheinlichkeit, ob ein kategoriales Merkmal, in dieser Betrachtung ob ein Ereignis stattfindet oder nicht, anhand der vorgegebenen unabhängigen Variablen. In der Betrachtung des postoperativen Verlaufs geht es darum, ob peri- und postoperativ Komplikationen aufgetreten sind. Als Komplikationen wird

1. das Auftreten einer Revisionsoperation
2. die Notwendigkeit einer Biopsie der Transplantatniere
3. Der Nachweis einer Transplantat-Abstoßung
4. Die Notwendigkeit einer Transplantat-Explantation

angesehen.

In Bezug zu Revisions-Operationen ergibt die logistische Regression folgende Werte:

		Klassifizierungstabelle ^a			
Beobachtet		Vorhergesagt		Prozentsatz der Richtigen	
		Revisions-OP			
		0	1		
Schritt 1	Revisions-OP	0	32	36	47,1
		1	26	44	62,9
	Gesamtprozentsatz				55,1

a. Der Trennwert lautet ,500

		Variablen in der Gleichung							
		Regressions- koeffizient B	Standard-Fehler	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% Konfidenzintervall für EXP(B)	
								Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	EAA	-,823	1,007	,668	1	,414	,439	,061	3,160
	Leukozyten	-,022	,045	,241	1	,624	,978	,896	1,068
	CRP	,052	,068	,577	1	,448	1,053	,921	1,204
	IL_6	-,006	,005	1,323	1	,250	,994	,985	1,004
	PCT	,143	,108	1,764	1	,184	1,154	,934	1,425
	Konstante	,418	,544	,591	1	,442	1,519		

a. In Schritt 1 eingegebene Variablen: EAA, Leukozyten, CRP, IL-6, PCT.

Tabelle: 8: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Revisions-OP“.

Für die Vorhersage, ob Revisions-Eingriffe notwendig werden könnten, kann anhand des EAA-Wertes, wie auch an den wichtigsten Entzündungswerten keine signifikante Prognose abgegeben werden. Auch für den EAA-Wert allein kann keine Signifikanz in dieser Berechnung ermittelt werden. Das Signifikanzniveau des Regressionsmodells als Ganzes ist mit $\chi^2=9,49$ und $p=0,091$ nicht ausreichend.

		Klassifizierungstabelle ^a			
Beobachtet		Vorhergesagt		Prozentsatz der Richtigen	
		Nieren-Biopsie			
		0	1		
Schritt 1	Nieren-Biopsie	0	81	10	89,0
		1	34	13	27,7
	Gesamtprozentsatz				68,1

a. Der Trennwert lautet ,500

		Variablen in der Gleichung							
		Regressions- Koeffizient B	Standard-Fehler	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% Konfidenzintervall für EXP(B)	
								Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	EAA	2,544	1,079	5,556	1	,018	12,736	1,535	105,647
	Leukozyten	,040	,049	,667	1	,414	1,040	,946	1,144
	CRP	,050	,071	,499	1	,480	1,051	,915	1,209

Ergebnisse

IL-6	,007	,006	1,220	1	,269	1,007	,995	1,019
PCT	-,279	,250	1,242	1	,265	,757	,464	1,235
Konstante	-2,005	,628	10,192	1	,001	,135		

a. In Schritt 1 eingegebene Variablen: EAA, Leukozyten, CRP, IL-6, PCT.

Tabelle: 9: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Nieren-Biopsie“.

Die logistische Regressionsanalyse für die Vorhersage von Nierenbiopsien kommt zu dem Ergebnis, dass die klinischen Entzündungswerte keinen signifikanten Beitrag leisten können. Der Koeffizient EAA-Wert hingegen kann mit ausreichender Signifikanz eine Eintrittswahrscheinlichkeit vorhersehen. Bei der Analyse muss beachtet werden, dass der EAA-Bereich nur den relativen Wert zwischen 0 und 1 erreichen kann, ein Anstieg um eine Einheit damit den gesamten Messbereich der EAA umfasst. Um hier eine sinnvolle Angabe tätigen zu können, wird daher die Odds Ratio durch den Faktor 10 geteilt, um den relativen Anstieg von 0,1 Einheiten der EAA-Skala zu erhalten. Demnach würde ein solcher schrittweiser Anstieg weiterhin eine 27%ige Risikosteigerung für die Notwendigkeit einer Nierenbiopsie anzeigen. Das Regressionsmodell als Ganzes ist dabei mit $\chi^2=17,66$ und $p=0,003$ signifikant.

Beobachtet		Vorhergesagt		Prozentsatz der Richtigen
		Keine Transplantat-Abstoßung	Transplantat-Abstoßung	
Schritt 1	Transplantat-Abstoßung	68	14	82,9
	Keine Transplantat-Abstoßung	26	30	53,6
Gesamtprozentsatz				71,0

a. Der Trennwert lautet ,500

	Variablen in der Gleichung						95% Konfidenzintervall für EXP(B)		
	Regressions-Koeffizient B	Standard-Fehler	Wald	df	Sig.	Exp(B)	Unterer Wert	Oberer Wert	
Schritt 1 ^a	EAA	4,269	1,233	11,992	1	,001	71,432	6,377	800,118
	Leukozyten	,131	,052	6,261	1	,012	1,140	1,029	1,263
	CRP	,142	,079	3,258	1	,071	1,153	,988	1,345
	IL_6	,004	,006	,375	1	,540	1,004	,992	1,016
	PCT	-,389	,291	1,783	1	,182	,678	,383	1,200
	Konstante	-3,228	,705	20,947	1	,000	,040		

a. In Schritt 1 eingegebene Variablen: EAA, Leukozyten, CRP, IL-6, PCT.

Tabelle: 10: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis / Episode einer „Transplantat-Abstoßung“.

Die Analyse zum Auftreten von Episoden mit Transplantat-Abstoßungen ergibt, dass sowohl der EAA-Wert als auch die klinisch ermittelte Leukozyten-Anzahl signifikante Beiträge für die Vorhersage

leisten. Auch hier muss die Odds Ratio des EAA-Wertes durch 10 dividiert werden, um weiterhin noch über eine siebenfache Risiko-Steigerung für das Auftreten einer Transplantat-Abstoßung bei einer EAA-Wert Erhöhung um 0,1 relative Einheiten zu erhalten. Steigt die Leukozytenzahl um eine ganze Einheit (1G/Liter) an, so treten Abstoßungs-Episoden mit einer 14%ig höheren Wahrscheinlichkeit auf. Das Regressionsmodell ist mit $\chi^2=37,965$ und $p<0,00001$ signifikant.

Beobachtet		Klassifizierungstabelle ^a			Prozentsatz der Richtigen
		Vorhergesagt			
		Kein Transplantat-Versagen	Transplantat-Versagen		
Schritt 1	Transplantat-Versagen	80	11	87,9	
	Kein Transplantat-Versagen	23	24	51,1	
Gesamtprozentsatz				75,4	

a. Der Trennwert lautet ,500

		Variablen in der Gleichung					95% Konfidenzintervall für EXP(B)		
		Regressions-Koeffizient B	Standard-Fehler	Wald	df	Sig.	Exp(B)	Unterer Wert	Oberer Wert
Schritt 1 ^a	EAA	4,554	1,256	13,156	1	,000	95,037	8,112	1113,418
	Leukozyten	,164	,056	8,664	1	,003	1,178	1,056	1,314
	CRP	,136	,078	3,007	1	,083	1,145	,982	1,335
	IL_6	,011	,007	2,738	1	,098	1,011	,998	1,024
	PCT	-,243	,209	1,351	1	,245	,784	,521	1,181
	Konstante	-4,317	,806	28,713	1	,000	,013		

a. In Schritt 1 eingegebene Variablen: EAA, Leukozyten, CRP, IL-6, PCT.

Tabelle: 11: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Transplantat-Versagen“.

Schaut man sich die Analyse für das Ereignis eines Transplantat-Versagens, so leisten auch hier sowohl der EAA-Wert als auch die Leukozyten-Anzahl einen signifikanten Beitrag zur Vorhersage. Nach dem bereits skizzierten Vorgehen bei der Interpretation der Odds Ratio für den EAA-Wert, bleibt weiterhin eine 9,5-fache Risikosteigerung für eine Transplantat-Abstoßung für jede 0,1-Steigerung des EAA-Wertes. Eine Erhöhung um 1G/Liter der Leukozyten-Zahl trägt noch zu 17,8% dazu bei, dass ein Transplantat-Versagen auftreten kann. Das Regressionsmodell als Ganzes ist mit $\chi^2=44,252$ und $p<0,00001$ hoch signifikant.

Beobachtet		Klassifizierungstabelle ^a	
		Vorhergesagt	

Ergebnisse

		Transplantat-Ex		Prozentsatz der Richtigen	
		0	1		
Schritt 1	Transplantat-Ex	0	114	1	99,1
		1	23	0	,0
	Gesamtprozentsatz				82,6

a. Der Trennwert lautet ,500

		Variablen in der Gleichung					95% Konfidenzintervall für EXP(B)		
	Regressions-Koeffizient B	Standard-Fehler	Wald	df	Sig.	Exp (B)	Unterer Wert	Oberer Wert	
Schritt 1 ^a	EAA	1,443	1,263	1,306	1	,253	4,234	,356	50,300
	Leukozyten	,082	,057	2,053	1	,152	1,085	,970	1,214
	CRP	,134	,083	2,625	1	,105	1,143	,972	1,345
	IL-6	-,005	,004	1,687	1	,194	,995	,987	1,003
	PCT	-,098	,115	,736	1	,391	,906	,724	1,135
	Konstante	-3,045	,755	16,266	1	,000	,048		

a. In Schritt 1 eingegebene Variablen: EAA, Leukozyten, CRP, IL-6, PCT.

Tabelle: 12: Logistische Regressionsanalyse für das Ereignis „Transplantat-Explantation“.

Bei der logistischen Regression für das Eintreten einer Transplantat-Explantation zeigt das Modell keine signifikanten Beiträge, sowohl von EAA als auch der klinischen Entzündungswerte. Das Modell als Ganzes ist dabei mit $\chi^2=7,51$ und $p=0,185$ nicht ausreichend signifikant.

Bei der Betrachtung mittels der logistischen Regression spielen die anderen verfügbaren patientenbezogenen Daten und Laborwerte keine nennenswerte Rolle. Durch probatorische Versuche, sinnvolle Kombinationen auf deren Einfluss für die Auftretens-Wahrscheinlichkeit dieser klinischen Ereignisse hin zu untersuchen, sind keine nennenswerten Ergebnisse herausgekommen.

4.3. Vergleich beider Studiengruppen

Vergleich beider Studiengruppen 1 und 2 (Alle Werte als Median \pm SD)			
	Gruppe 1: Dialyse	Gruppe 2: NTx	p-Wert
Alter	67,6 \pm 14,5	54,8 \pm 15,1	**p = 0,006
Weiblich	13 (43%)	4 (22%)	p = 0,14
Trockengewicht (kg)	70,7 \pm 19,3	74,1 \pm 13,2	p = 0,65
BMI (kg/m ²)	24,4 \pm 6,7	24,0 \pm 3,3	p = 0,94
CIRS-Score	19,8 \pm 4,4	18,0 \pm 5,4	p = 0,12
Dialysen-Dauer	3,4 \pm 4,9	3,9 \pm 4,5	p = 0,96
Patienten mit Rest-Ausscheidung	14 (47%)	7 (39%)	p = 0,61

Initialer Hb-Wert (g/dl)	11,5 ± 1,1	11,5 ± 1,6	p = 0,79
EAA-Werte alle Messungen	0,1897 ± 0,094	0,3141 ± 0,1807	**p < 0,0001
EAA-Werte vor OP		0,2869 ± 0,1739	p = 0,07
EAA-Werte direkt post-OP		0,2735 ± 0,1224	p = 0,01
➤ 1. Post-OP Tag		0,2953 ± 0,2138	p = 0,06
➤ 2. Post-OP Tag		0,3537 ± 0,2043	p < 0,01
➤ 3. Post-OP Tag		0,3433 ± 0,1584	p < 0,01
➤ 5. Post-OP Tag		0,4343 ± 0,2425	p = 0,04
➤ 7. Post-OP Tag		0,3900 ± 0,2397	p = 0,07
➤ 10. Post-OP Tag		0,3367 ± 0,1926	p = 0,12
➤ 15. Post-OP Tag		0,3200 ± 0,2077	p = 0,23
➤ 21. Post-OP Tag		0,3775 ± 0,3442	p = 0,36
CD14&CD45+Monozyten	0,2585 ± 0,1115	0,3619 ± 0,1897	**p < 0,0001
CD14 Expression	104,30 ± 30,83	60,12 ± 17,34	**p < 0,0001
HLA-DR	35,92 ± 15,67	11,24 ± 6,05	**p < 0,0001
CD14+ / HLA + Monozyten [%]	79,95 ± 11,25	40,77 ± 17,48	**p < 0,0001

Tabelle: 13: Übersicht über Patienten-Charakteristika beider Studienarme.

Im direkten Vergleich beider Gruppen fallen die bis auf die unterschiedliche Altersverteilung recht einheitlichen Charakteristika der Patienten auf, sodass man hier - mit geringen Abstrichen - von einem einheitlichen und damit vergleichbaren Patienten-Kollektiv ausgehen kann. Bei der weiteren Analyse ist zu beachten, dass bei den Dialyse-Patienten nur über einen sehr kurzen Zeitraum von zwei Dialysesitzungen Daten erhoben, während bei den nierentransplantierten Patienten über einen längeren Zeitraum Messwerte erhoben wurden. Vergleicht man daher die Werte der Dialyse-Patienten mit den einzelnen postoperativen Tagen der nierentransplantierten Patienten, so zeigen sich deutliche Unterschiede hinsichtlich der Höhe der EAA-Werte.

Es ist zudem deutlich auffällig, dass die experimentellen Werte der zweiten Gruppe auf eine deutliche Immunsuppression hinweisen, was natürlich der verabreichten medikamentösen Immunsuppression zum Schutz der Transplantat-Niere geschuldet ist. Daher sind sowohl die Rezeptordichte, als auch die Anzahl der Rezeptor-positiven Monozyten nach einer Nierentransplantation deutlich im Vergleich zu nicht operierten Dialysepatienten vermindert.

5. DISKUSSION

Patienten mit einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz (ESRD) haben eine deutlich erhöhte Morbidität und Mortalität im Vergleich zur Normalbevölkerung. Hierfür wird auch ein chronisch inflammatorischer Zustand in diesem Patientenkollektiv verantwortlich gemacht. Als wichtige Ursache konnte bei Dialysepatienten eine erhöhte Endotoxinämie identifiziert werden.

Nach einer Nierentransplantation, die nach wie vor als bislang einzige kausale Therapie der ESRD angesehen wird, gelten nach wie vor Abstoßungsreaktion, Verlust der Transplantat-Funktion und Transplantatverlust, wie auch operative Risiken als die wesentlichen Risikofaktoren für ein negatives therapeutisches Ergebnis der Transplantation. Auch hier gelten bislang nur schwer nachweisbare, vor allem jedoch noch nicht prädiktiv ermittelbare Immunstimulationen ursächlich für immunoinflammatorische Prozesse.

Die ursprünglich aus der Sepsis- und Infektionsforschung stammende Messung der Endotoxin-Aktivität gilt als potenzieller Trigger immunoinflammatorischer Prozesse, sowohl als akut verlaufende Form durch Infektionen mit oder Translokation von gram-negativen Bakterien, als auch durch erhöhte Endotoxinämie chronisch existierend. Bislang wurden Endotoxinämie basierend auf dem semiquantitativen Limulus Amoebocyte Lysate (LAL) ermittelt. Dieser Test, der auf der sehr sensitiven Clotting-Eigenschaft des Blutes der fossilen Pfeilschwanzkrebse beruht, ist jedoch durch zahlreiche Störgrößen in seiner Aussagekraft eingeschränkt. Auf der Suche nach neuen, leichter herstellbaren und verlässlicheren Nachweismethoden wurde der Endotoxin Activity Assay (EAA) entwickelt. Dieser basiert auf der oxydativen Reaktion neutrophiler Granulozyten nach Endotoxinkontakt und ist daher in seiner Aussagekraft sehr verlässlich, durch die Notwendigkeit der zellulären Reaktion weniger durch Störgrößen beeinflussbar und durch die genaue Quantifizierung seiner chemischen Bestandteile in großem Maßstab herstellbar.

Aufgrund dieser Tatsache, dass eine Endotoxinämie vor einer überschießenden Aktivierung des Immunsystems mit einer systemischen Entzündungsreaktion vorangeht, stellt sich für diese geplante Studie die Fragestellung, ob das engmaschige Monitoring der Endotoxinämie, gepaart mit der Erfassung von anderen experimentellen immunoinflammatorischen Parametern eine prognostische und therapeutische Bedeutung im Rahmen einer Nierentransplantation erlangen kann.

Dadurch, dass die Endotoxinämie bei Dialysepatienten bislang hauptsächlich mit dem LAL-Test ermittelt wurde, fehlen bislang ausreichende Daten bezüglich der Bestimmung der Endotoxin-Aktivität

(EA) bei Dialysepatienten. Auch wurde die perioperative Endotoxämie bei Nierentransplantationspatienten perioperativ noch nicht ausreichend untersucht, auch in Hinblick auf mögliche Zusammenhänge bezüglich akut eintretender perioperativer Komplikationen.

Die vorliegende Studie soll die Veränderung der Endotoxin-Aktivität als möglicher Surrogatmarker für den immunoinflammatorischen Zustand in den gegenwärtigen Therapieformen der terminalen Niereninsuffizienz, im Einzelnen Hämodialyse und Nierentransplantation, in zwei Studienarmen genauer untersuchen. In einem ersten Studienarm werden Daten bezüglich der Auswirkung regulärer Dialysesitzungen auf den EAA-Wert ermittelt, sowie in Zusammenhang mit weiteren laborexperimentellen und klinischen Werten gestellt. Das Ziel hierbei lag darin, erstmals Daten zur Endotoxin-Aktivität bei stabilen Dialysepatienten, auch mit Blick auf den zweiten Studienarm zu generieren.

In dieser zweiten Teilstudie geht es darum, zu überprüfen, ob die Bestimmung der Endotoxinaktivität unter Verwendung des Endotoxin Activity Assays neue Informationen über die postoperative Nierenfunktion, sowie das Auftreten von möglichen Komplikationen liefern kann.

5.1. Teilstudie A: Endotoxin-Aktivität bei Dialyse-Patienten

Die im Rahmen dieser Teilstudie bei zwei aufeinander folgenden Dialysesitzungen erhobenen EAA-Werte zeigen, dass die Endotoxin-Aktivität durch eine Dialysebehandlung selbst nicht beeinflusst wird. Bei den zum Messzeitpunkt klinisch inapparenten Patienten bleibt die absolute Höhe des EAA auf einem konstant niedrigen Niveau und zeigt keine einzelnen Ausreißer nach oben. Die EAA-Werte lassen sich zudem nicht mit anderen erhobenen personen- oder dialysebezogenen Parametern in einen signifikanten Zusammenhang bringen. Die Tatsache, dass sich die Korrelation von untersuchten Werten zum Teil deutlich zwischen den beiden Dialysen bzw. den jeweiligen EAA-Messungen vor und nach den Dialysen unterscheiden, spricht sehr dafür, dass es keine klinischen Verbindungen zwischen den EAA-Werten und anderen patienten- oder dialysebezogenen Parametern bestehen. Ebenso lassen sich keine relevanten Bezüge zu den begleitend erhobenen Laborwerten herstellen, sodass man insgesamt festhalten kann, dass die EAA-Werte bei diesen Patienten keine Hinweise auf immunologische Veränderungen liefern können. Die EAA-Messung selbst zeigt für alle vier Messreihen eine Co-efficient of Variation (CV) von genau 10,8% [9,7 – 12,8] im Median. Damit kann die Genauigkeit der EAA-Messungen als hinreichend genau angenommen werden, da die Hersteller ebenfalls einen CV-Bereich zwischen 8% - 12%, abhängig von der Konzentration der Standard-LPS-Lösungen angeben (Romaschin et al. 1998).

Die Einordnung dieser Ergebnisse mit bereits erhobenen Erkenntnissen ist nur schwer direkt durchführbar, da bislang meist der LAL-Test in vorangegangenen Studien verwendet wurde. Dieser misst eine Endotoxin-Konzentration in Endotoxin-Einheiten (EU/ml), während der EAA-Test eine Aktivität der Endotoxin-Konzentration ermittelt, die einheitslos einen relativen Wert zwischen 0 und 1 annehmen kann. Dennoch lassen sich parallele Tendenzen festhalten. Die Ergebnisse von McItyre et al. (2011), Terawaki et al. (2010) und Suzuki et al. (2011) zeigten alle erhöhte Endotoxin-Werte *nach* einer Dialyse-Behandlung im Vergleich zu den Werten, die zuvor erhoben wurden. Als ursächlich wird zum einen von McItyre und Kollegen eine kardiale Belastung während der Dialyse-Behandlung angesehen, die zu einer Volumen-Verschiebung und Hypoxie des Gastro-Intestinal-Trakts (GIT) führt. Dadurch kann es zu einer erhöhten Translokation zellulärer Bestandteile gram-negativer Bakterien kommen, die sich schließlich in erhöhten Endotoxin-Werten nachweisen ließen. Suzuki und Kollegen (2011) vermuten als weitere mögliche Ursache eine minimale Verunreinigung der Dialysegeräte und Flüssigkeiten während der Anwendung der Maschinen und Durchführung der Dialyse selbst. Diese Aussagen können für die zweite Dialysemessung nur tendenziell bestätigt werden, während die Messergebnisse der ersten Dialyse-Sitzung dem widersprechen und eher im Einklang mit den Messergebnissen von Markum et al. (2004) stehen: Auch sie konnten keine signifikanten Unterschiede in den Endotoxin-Konzentrationen vor und nach einer Hämodialyse feststellen (Markum et al. 2004). Man kann hierbei vermuten, dass die Verwendung von ultrareinen Dialysaten, Anwendung der technischen und hygienischen Vorschriften eine Verunreinigung im relevanten Maßstab verhindern können und die Patienten durch vorsichtigen Volumen-Entzug kardial weniger belastet werden.

5.2. Teilstudie B: Perioperative Messung der Endotoxin-Aktivität von Nieren-Transplantations-Patienten

Von den 18 Patienten in dieser Teilstudie, die sich durchschnittlich 20,5 Tage in stationärer Behandlung nach ihrer Nierentransplantation befanden, wurden in der Summe 210 Blutproben abgenommen, was knapp 12 Messungen pro Patienten über den stationären Verlauf entspricht. Um die gewonnenen Daten sinnvoll miteinander vergleichen zu können, wurden die Studienteilnehmer in Abhängigkeit von ihren gemessenen EAA-Werten unterteilt. Aus vorangegangenen Studien ist bekannt, dass neben der absoluten Höhe eines Messwertes prognostisch entscheidend ist in welchem Bereich, normal – intermediär – hoch, sich die EAA-Werte befinden (Klein et al. 2007). Daher wurde ein Quotient aus den hohen und intermediären EAA-Werten im Verhältnis zu den niedrig-normalen Messwerten gebildet und die Patienten dahingehend eingruppiert

Neben dieser möglichen Gruppeneinteilung in diese beiden Subgruppen - zum Einen Gruppe A „Low Risk“ (tendenziell normale Werte mit einem durchschnittlichem EAA-Wert von 0,2669) und Gruppe B „High Risk“ (vornehmlich intermediäre und hohe Werte, MW 0,4461, $p < 0,0001$) - wären potenziell auch anderen Gruppeneinteilungen der Studienteilnehmer möglich. Nähme man die Patienten in einer Gruppe zusammen, bei denen es zu Nieren-Biopsien, nachgewiesenen Episoden mit Transplantat-Abstoßungen oder Transplantat-Versagen gekommen ist und vergleicht diese mit dem jeweiligen Rest der anderen Studienteilnehmer, so lassen sich die EAA-Werte in jeder dieser möglichen Konstellationen weiterhin hoch signifikant voneinander unterscheiden. Solche Gruppeneinteilungen würde jedoch der Studienfrage, ob durch die EAA-Werte auch prognostische Hinweise auf ebendiese Komplikationen liefern können, widersprechen. Denn der Ansatz dieser Studie liegt in dem Konzept, dass eine Immunaktivierung vor der Abstoßungsreaktion erfolgt und diese Immunaktivierung mittels der EAA als Surrogat-Parameter ermittelt wird. Daher wurde diese Gruppen-Einteilung zwischen Low und High Risk so belassen und als Grundlage für die weiteren Analysen hergenommen.

Betrachtet man die Inzidenz von postoperativen Komplikationen, so fällt ein deutlicher Zusammenhang zwischen erhöhten EAA-Werten und dem Auftreten dieser Ereignisse auf. Bis auf eine Ausnahme musste bei jedem Patienten der Gruppe B („High Risk“) Komplikationen behandelt und Maßnahmen dagegen unternommen werden. 4 der 5 Patienten mit einem Transplantat-Versagen befinden sich der Gruppe B, wie auch 4 der 6 Patienten, bei denen es zu mindestens einer Episode mit einer Abstoßungsreaktion gekommen ist. Ein Patient der Gruppe B blieb was das transplantierte Organ angeht weitestgehend symptomfrei, jedoch entwickelte er einen hochgradigen Verdacht auf einen Ileus am dritten post-operativen Tag, sodass diese notfallmäßig per offener Laparotomie behoben werden musste. Die EAA-Werte dieses Patienten waren sowohl direkt nach der Nierentransplantation und vor Laparotomie mit den höchsten gemessenen Werten aller Patienten außerordentlich hoch. Aufgrund der mesenterialen Darmischämie vor und evtl. auch nach Diagnosestellung ist hier von einer massiven Permeabilitätsstörung mit folgender Translokation von gram-negativen Darmbakterien und deren Fragmenten auszugehen. Im weiteren stationären Verlauf, der dann komplikationslos verlaufen ist, normalisierte sich auch der EAA-Wert auf normal-niedrige Werte. Bei einem Patienten entwickelte sich aus einer Episode einer Transplantat-Abstoßung mehr und mehr eine Urosepsis heraus, die schließlich in einem Multiorganversagen und Tod des Patienten mündete.

Die statistische Untersuchung der experimentellen sowie klinischen Labor- und Verlaufparameter zwischen diesen beiden Gruppen zeigt zum Teil deutliche und signifikante Unterschiede. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die Werte der High Risk Gruppe B ungünstiger im direkten Vergleich zu den Patienten der anderen Gruppe präsentieren. Sowohl in der Gesamtheit aller

gemessenen EAA-Werte als auch über den zeitlichen Verlauf zeigen die EAA-Werte an einzelnen Tagen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen. Wenngleich an einzelnen Tagen aufgrund der abnehmenden Probenzahl keine ausreichende Signifikanz ermitteln lässt, so ist ein deutlicher Trend zu höheren EAA-Werten in der High Risk Gruppe im direkten Vergleich zur Low Risk Gruppe erkennbar. Wichtig bleibt hervorzuheben, dass der präoperative EAA-Wert in der High Risk Gruppe bereits signifikant erhöht im direkten Vergleich zur Low Risk Gruppe ist (0,20 vs. 0,49, $p=0,01$). Dies könnte man als Indiz werten, dass diese Patienten mit einer bereits erhöhten immunoinflammatorischen Aktivität in die Nierentransplantation hinein gehen und dadurch ein erhöhtes Risiko für Komplikationen in sich tragen. Woher diese bereits präoperativ vorhanden Immunaktivierung genau bzw. kausal stammen könnte, lässt sich im Rahmen dieser Studie nicht beantworten. Zwar wurden auch bereits bekannte Entitäten, wie Volumenüberladung, eingeschränkte epitheliale Barrierefunktion des Gastro-Intestinal-Trakts, Urämie und weiteres genannt. Diese lassen sich jedoch nicht anhand der vorliegenden Studiendaten, in der keine signifikanten Korrelationen zu den Patientencharakteristika hergestellt werden können, herleiten.

Auf die Werte der Nierenfunktion oder Entzündungswerte lässt sich die Beobachtung von eher ungünstigen Werten in der High Risk Gruppe im Vergleich zur Low Risk Gruppe übertragen. Die in dieser Studie ermittelten Surrogat-Parameter der Nierenfunktion – tägliche Ausscheidungsmenge, Kaliumwert, Kreatinin und Harnstoff – zeigen zum Teil hochsignifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen, mit dem ungünstigeren Profil für die Patienten der High Risk Gruppe. Es fällt hierbei auf, dass sich die präoperativen Werte beider Gruppen nicht voneinander unterscheiden lassen und erst postoperativ divergieren.

Die klinischen Surrogatwerte der Entzündungsreaktion – im Einzelnen Leukozytenzahl, CRP-Wert, Procalcitonin und IL-6 – zeigen ein gemischtes Bild. Während die Leukozytenzahl und der CRP-Wert sich statistisch signifikant zwischen den beiden Subgruppen unterscheiden lassen, ist für den IL-6-Wert nur ein Trend erkennbar, beim Procalcitonin ist aufgrund der verringerten Probenanzahl durch längere Abnahmeintervalle keine Unterscheidung zwischen den Gruppen möglich.

Es lässt sich dennoch festhalten, dass in der Gesamtbetrachtung aller untersuchten einzelnen Laborparameter die Werte der High Risk Gruppe ungünstigere Tendenzen im Vergleich zur Low Risk Gruppe aufweisen.

In der Korrelationsanalyse der klinischen Laborwerte mit dem Hauptmarker dieser Studie, dem EAA-Wert, ergibt sich ein unterschiedliches Bild. Der EAA-Werte lassen sich mit den wichtigen Entzündungswerten CRP, Leukozyten-Anzahl und IL-6-Konzentration signifikant miteinander

korrelieren. Dies bestätigt die Studienannahme, dass hohe EAA-Werte und eine Immunaktivierung miteinander einhergehen und dies durch ebenfalls erhöhte klinische Entzündungswerte bestätigt wird. Darüber hinaus sind es nur vereinzelte Werte, wie das LDH oder AT-III, bei denen sich Signifikanzen ergeben. Zu den klinischen Vitalparametern, Nierenfunktionswerten oder Protein-Stoffwechsel-Markern sind keine signifikanten Korrelationen nachweisbar.

Geht man einen Schritt weiter, so stellt man fest, dass der Versuch, die unspezifischen Korrelationen zwischen EAA und klinischen Werten durch eine Regression in einen gerichteten Kausalzusammenhang zu bringen, für die allermeisten klinischen Parametern erfolglos verläuft. Bis auf Leukozytenanzahl, Fibrinogengehalt im Blut, sowie Größe und Gewicht der Patienten lassen sich keine signifikanten Verbindungen durch lineare Regression herstellen. Hier zeigt sich, dass der EAA-Wert recht isoliert zu den anderen Laborwerten steht.

Diese Diskrepanz lässt sich mitunter dadurch erklären, dass in der Korrelationsanalyse mathematisch bedingt alle Werte einfließen, unabhängig von ihrem Erhebungszeitpunkt. Bei der linearen Regression werden hingegen Wertepaare in die Analyse miteingeschlossen. Da jedoch bei den zahlreichen Messungen an verschiedenen Messtagen unterschiedliche Einzelwerte fehlen, minimiert sich die Anzahl der für die Berechnungen relevanten Wertepaare, trotz der an sich großen Stichprobengrößen.

Es lässt sich daher zusammenfassen, dass parallel zu den Ergebnissen der Dialyse-Teilstudie eine Einbettung des EAA-Wertes in vorhandene klinische Labor- und Entzündungswerte zumindest im Rahmen dieser Studien mit seiner begrenzten Teilnehmerzahl nicht erfolgen kann. Dies mag zum einen daran liegen, dass bei vielen Patienten aufgrund von Anämien und Intensivaufenthalten während ihres stationären Aufenthaltes keine Proben für die EAA-Ermittlung gewinnen werden konnten. Zum anderen bedingt ein Stichprobenumfang von nur 18 Personen, dass signifikante Verbindungen erst mit steigender Probengröße sichtbar werden.

Eine weitere mögliche Ursache mag darin liegen, dass die klinischen Entzündungswerte, wie auch Retentionswerte oder Blutbild-Charakteristika reaktiv auf die Ereignisse reagieren und damit meist erst im Nachgang ansteigen. Bei den EAA-Werten konnte man ablesen, dass diese sowohl im Voraus als auch im Nachgang zu den klinischen Ereignissen angestiegen sind. Zusammen mit den erwähnten mathematisch notwendigen Wertepaaren ergibt sich dadurch die Möglichkeit von bereits erhöhten EAA-Werten auf der einen und noch niedrigen Entzündungswerten auf der anderen Seite, als auch bereits abklingende EAA-Werte einerseits und noch ansteigende oder hohe Entzündungswerte andererseits. Während dies für die Ermittlung von Korrelationen unerheblich ist, spielt dies für die Ermittlung signifikanter Regressionskoeffizienten eine wichtige Rolle.

Bringt man die EAA-Werte jedoch mit der Eintrittswahrscheinlichkeit für klinische Ereignisse durch eine logistische Regression zueinander, so zeigt sich, dass der EAA-Wert im signifikanten Ausmaß die Eintrittswahrscheinlichkeit ermitteln kann. Dies gilt sowohl für Nieren-Biopsien, Episoden mit einer Transplantat-Abstoßung, als auch für das Versagen der Transplantat-Funktion. Nur eine Tendenz, weil nicht statistisch signifikant, lässt sich für die Notwendigkeit einer Revisions-Operation als auch für die Notwendigkeit einer Transplantat-Explantation aus den vorliegenden Daten herauslesen. Hier sei angemerkt, dass sich eine Risikoabschätzung für eine Explantation wahrscheinlich nur aufgrund der zu geringen Anzahl dieser Ereignisse nicht statistisch signifikant genug ermitteln lässt. Untersuchungen an größeren Patientenpopulationen sollten hierzu verlässliche Antworten liefern können.

Basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen dieser Studie lässt sich daher eine vorsichtige Aussage formulieren, dass eine erhöhte Endotoxin Aktivität mit einer erhöhten Eintrittswahrscheinlichkeit sowohl für perioperative Komplikationen als auch Abstoßungsreaktionen perioperativ einer Nierentransplantation vergesellschaftet ist. Dazu passend konnte eine Studie von Carron et al. (2019) zeigen, dass eine erhöhte präoperative LPS-Aktivität mit einem erhöhten Risiko für Infektionen und verringertem Transplantat-Überleben einhergeht. Aufgrund des Studiendesigns von jeweils einer Blutprobe vor der Transplantation und etwa ein Jahr danach, kann die Studie nur Aussagen bezüglich des mittel- bis langfristigen postoperativen Verlaufs angeben, nicht jedoch für die direkte postoperative Phase nach der Transplantation. Ebenso wurde der Fokus nur auf Infektionen und Abstoßungsreaktionen gelegt, nicht jedoch auf die anderen möglichen Komplikationen, die innerhalb dieser Studie beleuchtet wurden.

Auf der Suche nach anderen möglichen Biomarkern für eine Abstoßungsreaktion wurden auch andere Ansätze angegangen. Zum einen wird die Idee verfolgt, mittels Urinalysen Biomarker für eine akute Abstoßungsreaktionen zu ermitteln. Goerlich et al (2020) konnten zeigen, dass eine kombinierte Erhöhung CD4+ und CD8+ T-Zellen, tubulären Epithelzellen und Podocalyxin-haltige Zellen im Urin nierentransplantierten Patienten auf eine akute Abstoßungsreaktion hinweisen können. Jedoch wurden die Urinproben unabhängig der Nierentransplantation selbst gewonnen, teilweise von langjährig nierentransplantierten Patienten, sodass es fraglich erscheint, ob diese Ergebnisse auf den direkten perioperativen Zeitraum ohne Weiteres übertragen werden können.

Ein weiterer Ansatz liegt in der Blutuntersuchung von Genexpressionsmustern aus Blutproben, die mit im Rahmen von Abstoßungsreaktionen gewonnenen Nierenbiopsien korreliert werden. In diesen Studien lassen sich sowohl verschiedene Genexpressionsmuster (beispielhaft H. Meng et al. 2018), als auch bestimmte mRNA-Nachweise mit dem Auftreten einer Abstoßungsreaktion korrelieren (Lo et al.

2014). Jedoch erfolgte auch hier die Probengewinnung unabhängig von der Nierentransplantation selbst in einem größeren Zeitraum nach erfolgter Transplantation, sodass auch in diesem Ansatz der perioperative Zeitraum unbeleuchtet bleibt.

Somit stellt das perioperative Monitoring der Endotoxin Aktivität eine weitere Möglichkeit dar, nierentransplantierte Patienten in der vulnerablen perioperativen Phase genauer monitoren und adäquater therapieren zu können. Dieses Wissen könnte zukünftig genutzt werden, bei Patienten mit erhöhten EAA-Werten eine schnellere und sichere Risikoabschätzung durchführen zu können.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Die chronische Inflammation stellt in der Therapie der terminalen Niereninsuffizienz eine große therapeutische Herausforderung dar. Als ein wichtiger Faktor hierfür konnte eine erhöhte Endotoxinämie identifiziert werden, die einen wesentlichen Risikofaktor für die erhöhte kardiovaskuläre Mortalität von Hämodialyse-Patienten darstellt, als auch den Erfolg von Nierentransplantation bezüglich Überleben und Graft-Funktion gefährden kann.

Bisherige Nachweismethoden einer Endotoxinämie sind in ihrer Herstellung sehr aufwendig und kostenintensiv. Eine neue Nachweismethode, das Endotoxin Activity Assay (EAA), fußt auf der Reaktion von Granulozyten auf Endotoxine und konnte in bisherigen Studien valide Ergebnisse erzielen. Ziel dieser Studie war es, diese neue Nachweis-Methode für die Untersuchung der Endotoxinämie bei dialysepflichtigen und nierentransplantierten Patienten zu evaluieren und in einen Gesamtkontext zu patientenbezogenen Daten, Laborwerten und klinischen Ereignissen zu stellen.

Der EAA kann keine wesentlichen Veränderungen der Endotoxin-Aktivität im Rahmen einer Dialyse-Behandlung feststellen. Ebenso zeigen sich die EAA-Werte von klinischen und patienten-bezogenen Parametern unabhängig. Im Unterschied zu anderen publizierten Ergebnissen konnte ebenfalls keine generelle Immunaktivierung anhand des EAA-Wertes bei Dialyse-Patienten ermittelt werden. Ein direkter Vergleich der auf unterschiedlichen Arten gemessenen Endotoxinämien ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur sehr eingeschränkt möglich.

Im postoperativen Verlauf von Nierentransplantationen können erhöhte Endotoxinwerte mit der Eintrittswahrscheinlichkeit von postoperativen Transplantations-Komplikationen, wie Transplantat-Abstoßungen oder Verlust der Transplantat-Funktion signifikant in Zusammenhang gebracht werden. Eine weitere Einbettung der EAA-Werte mit klinischen verfügbaren Laborwerten oder patientenbezogenen Daten ist nur in unzureichendem Maße möglich.

Mit Hilfe dieser zweigliedrigen Studie konnten neue Erkenntnisse sowohl bezüglich der Endotoxinämie bei dialysepflichtigen Patienten als auch des immunoinflammatorischen Zustands nierentransplantierten Patienten gewonnen werden. Weitere Analysen hätten zur Aufgabe, diese neue Nachweismethode zur Endotoxinämie neben den terminal nierenerkrankten Patienten auch auf andere Patientengruppen mit erhöhtem Risiko für Komplikationen aufgrund vorangegangener Immunstimulationen anzuwenden.

7. ERKLÄRUNG AN EIDES STATT

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation 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, 16.03.2023

Dustin van Delden

Ort, Datum

Unterschrift

8. ANHANG

Bivariate Korrelationen der Werte aller nieren-transplantierten Patienten nach Spearman.																				
	Kalium	Blut-Glucose	Harnstoff	Kreatinin	Phosphat	Gesamt-Eiweiß	Albumin	Leukozyten	Hb	Thrombozyten	Quick	Fibrinogen	Anti-Thrombin III	CRP	PCT	IL-6	LDH	Ferritin	Transferrin	EAA-Werte
Kalium	r 1,000	,081	,119*	,341**	,355**	,162*	,288**	,162**	,338**	,090	,003	-,163	-,303**	,078	,197*	,195**	,132	,330**	-,114	,098
	p ,180	,180	,038	,000	,000	,046	,001	,006	,000	,125	,970	,105	,005	,189	,010	,009	,106	,000	,181	,177
Blut-Glucose	r ,081	1,000	,076	,145*	,160*	-,029	-,107	,252**	,027	,042	-,051	,190	-,289**	,129*	,248**	,042	,083	,084	,015	-,022
	p ,180	,180	,206	,016	,014	,721	,250	,000	,655	,488	,476	,058	,007	,035	,001	,580	,310	,325	,857	,763
Harnstoff	r ,119*	,076	1,000	,721**	,677**	,054	,031	,237**	,193**	-,075	-,245**	,208*	,311**	,015	,177*	-,173*	,152	,031	-,179*	,061
	p ,038	,206	,000	,000	,000	,510	,735	,000	,001	,195	,000	,034	,003	,803	,019	,018	,061	,720	,035	,399
Kreatinin	r ,341**	,145*	,721**	1,000	,796**	,205*	,259**	,186**	,397**	-,228**	-,345**	,189	-,169	,116*	,382**	,097	,101	,185*	-,167*	,059
	p ,000	,016	,000	,000	,000	,011	,004	,001	,000	,000	,000	,055	,113	,048	,000	,186	,216	,029	,049	,416
Phosphat	r ,355**	,160*	,677**	,796**	1,000	-,040	,017	,166**	,263**	-,169**	-,257**	,245*	-,003	,301**	,407**	,073	,109	,155	-,254**	,059
	p ,000	,014	,000	,000	,000	,624	,859	,009	,000	,008	,000	,013	,976	,000	,000	,333	,186	,070	,003	,425
Gesamt-Eiweiß	r ,162*	-,029	,054	,205*	-,040	1,000	,802**	-,055	,650**	,248**	,197*	,118	,178	-,419**	-,235*	-,192*	-,161	-,131	,513**	-,007
	p ,046	,721	,510	,011	,624	,000	,000	,505	,000	,002	,018	,268	,117	,000	,011	,034	,053	,131	,000	,939
Albumin	r ,288**	-,107	,031	,259**	,017	,802**	1,000	-,103	,718**	,166	,163	-,066	,190	-,486**	-,044	-,232*	-,398**	-,211*	,501**	-,096
	p ,001	,250	,735	,004	,859	,000	,000	,263	,000	,070	,075	,543	,094	,000	,654	,016	,000	,026	,000	,349
Leukozyten	r ,162**	,252**	,237**	,186**	,166**	-,055	-,103	1,000	,027	,155**	-,012	,161	-,147	,017	,063	,146*	,258**	,013	-,048	,159*
	p ,006	,000	,000	,001	,009	,505	,263	,000	,642	,007	,855	,102	,167	,779	,405	,045	,001	,877	,579	,026
Hb	r ,338**	,027	,193**	,397**	,263**	,650**	,718**	,027	1,000	,137*	,136*	,198*	,153	-,154**	,065	-,028	-,163*	-,093	,314**	-,003
	p ,000	,655	,001	,000	,000	,000	,000	,642	,000	,016	,044	,044	,150	,009	,394	,701	,044	,278	,000	,964
Thrombozyten	r ,090	,042	-,075	-,228**	-,169**	,248**	,166	,155**	,137*	1,000	,452**	,355**	,453**	-,173**	-,573**	,192**	,019	-,204*	,536**	,011
	p ,125	,488	,195	,000	,008	,002	,070	,007	,016	,000	,000	,000	,000	,003	,000	,008	,821	,016	,000	,879
Quick	r ,003	-,051	-,245**	-,345**	-,257**	,197*	,163	-,012	,136*	,452**	1,000	,360**	,389**	-,181**	-,356**	-,170*	-,057	-,150	,418**	-,019
	p ,970	,476	,000	,000	,000	,018	,075	,855	,044	,000	,000	,000	,000	,008	,000	,034	,501	,080	,000	,813
Fibrinogen	r -,163	,190	,208*	,189	,245*	,118	-,066	,161	,198*	,355**	,360**	1,000	,367**	,367**	-,179	,015	,147	-,044	,275*	-,106
	p ,105	,058	,034	,055	,013	,268	,543	,102	,044	,000	,000	,000	,001	,000	,087	,878	,170	,686	,010	,330
Anti-Thrombin III	r -,303**	-,289**	,311**	-,169	-,003	,178	,190	-,147	,153	,453**	,389**	,367**	1,000	-,107	-,370**	,365**	-,156	-,301**	,310**	-,100
	p ,005	,007	,003	,113	,976	,117	,094	,167	,150	,000	,000	,001	,000	,320	,001	,001	,175	,008	,006	,385
CRP	r ,078	,129*	,015	,116*	,301**	-,419**	-,486**	,017	,154**	-,173**	-,181**	,367**	-,107	1,000	,327**	,496**	,361**	,345**	-,462**	,154*
	p ,189	,035	,803	,048	,000	,000	,000	,779	,009	,003	,008	,000	,320	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,033
PCT	r ,197*	,248**	,177*	,382**	,407**	-,235*	-,044	,063	,065	-,573**	-,356**	-,179	-,370**	,327**	1,000	,290**	,072	,326**	-,351**	,103
	p ,010	,001	,019	,000	,000	,011	,654	,405	,394	,000	,000	,087	,001	,000	,000	,000	,434	,000	,000	,223
IL-6	r ,195**	,042	-,173*	,097	,073	-,192*	-,232*	,146*	-,028	-,192**	-,170*	,015	-,365**	,496**	,290**	1,000	,233**	,299**	-,302**	,201*
	p ,009	,580	,018	,186	,333	,034	,016	,045	,701	,008	,034	,878	,001	,000	,000	,000	,010	,001	,001	,014
LDH	r ,132	,083	,152	,101	,109	-,161	-,398**	,258**	-,163*	,019	-,057	,147	-,156	,361**	,072	,233**	1,000	,375**	-,190*	,244**
	p ,106	,310	,061	,216	,186	,053	,000	,001	,044	,821	,501	,170	-,175	,000	,434	,010	,000	,000	,000	,006
Ferritin	r ,330**	,084	,031	,185*	,155	-,131	-,211*	,013	-,093	-,204*	-,150	-,044	-,301**	,345**	,326**	,299**	,375**	1,000	-,518**	,066
	p ,000	,325	,720	,029	,070	,131	,026	,877	,278	,016	,080	,686	,008	,000	,000	,001	,000	,000	,000	,479
Transferrin	r -,114	,015	-,179*	-,167*	-,254**	,513**	,501**	-,048	,314**	,536**	,418**	,275*	,310**	-,462**	-,351**	-,302**	-,190*	-,518**	1,000	-,009
	p ,181	,857	,035	,049	,003	,000	,000	,579	,000	,000	,000	,010	,006	,000	,000	,001	,026	,000	,000	,920
EAA-Werte	r ,098	-,022	,061	,059	,059	-,007	-,096	,159*	-,003	,011	-,019	-,106	-,100	,154*	,103	,201*	,244**	,066	-,009	1,000
	p ,177	,763	,399	,416	,425	,939	,349	,026	,964	,879	,813	,330	,385	,033	,223	,014	,006	,479	,920	,000

Korrelationen zwischen experimentellen und klinischen Laborwerten														
		Alle Monozyten	%-Anteil Monozyten	CD14 positive Monozyten	CD14 positive Monos %	CD 45 + Zellen	CD45+ / CD14+ Monozyten	HLA-DR Median	HLA Geometr. Mittel	HLA Arithm. Mittel	CD14+ Median	CD14+ geom. Mittel	CD14+ Arithm. Mittel	CD14+ / HLA- DR+
EAA-Werte	r	,056	-,068	,179**	,028	-,002	,016	-,035	-,032	-,010	,099	,099	,123	-,025
	p	,225	,179	,008	,352	,490	,414	,319	,337	,446	,093	,093	,051	,371
Kalium	r	-,129*	-,181**	-,056	-,133*	-,036	-,019	-,133*	-,132*	-,147*	-,034	-,017	,001	-,141*
	p	,037	,006	,220	,032	,310	,396	,035	,036	,022	,322	,410	,492	,026
Blut-Glucose	r	,042	-,101	,047	-,073	-,274**	,220**	-,038	-,032	-,064	-,079	-,086	-,096	-,040
	p	,285	,083	,261	,159	,000	,001	,305	,333	,196	,145	,123	,098	,293
Harnstoff	r	,070	,001	,152*	,059	-,019	,031	-,073	-,096	-,222**	-,096	-,096	-,096	-,157*
	p	,165	,493	,017	,209	,398	,332	,160	,095	,001	,096	,095	,094	,015
Kreatinin	r	,056	-,013	,137*	,052	-,052	,071	,001	-,010	-,069	-,259**	-,269**	-,255**	-,046
	p	,221	,428	,029	,236	,236	,162	,495	,448	,174	,000	,000	,000	,263
Gesamt-Eiweiß	r	-,080	-,005	-,099	-,025	,376**	-,388**	,193*	,204*	,251**	,141	,155	,138	,099
	p	,191	,478	,142	,393	,000	,000	,020	,015	,004	,068	,050	,072	,143
Albumin	r	-,021	,093	-,089	,045	,257**	-,206*	,116	,109	,151	,080	,103	,074	,062
	p	,422	,189	,200	,335	,007	,024	,142	,157	,081	,231	,172	,247	,281
Bilirubin	r	-,161*	-,182*	-,015	-,051	-,161*	,001	-,061	-,052	-,096	-,061	-,032	-,052	-,132
	p	,038	,022	,433	,287	,038	,495	,257	,289	,154	,259	,368	,288	,073
Leukozyten	r	,200**	-,092	,251**	-,013	-,190**	,278**	-,182**	-,223**	-,297**	,078	,077	,096	-,184**
	p	,003	,101	,000	,426	,004	,000	,006	,001	,000	,144	,148	,094	,005
Hb	r	-,066	-,095	-,042	-,065	,180**	-,214**	-,023	-,039	-,106	-,063	-,055	-,055	-,078
	p	,178	,093	,280	,182	,006	,001	,377	,296	,072	,196	,225	,227	,138
Thrombozyten	r	-,037	-,104	-,045	-,102	,133*	-,216**	,149*	,115	,039	,101	,106	,107	,064
	p	,304	,073	,265	,078	,032	,001	,020	,058	,298	,082	,074	,159	,189
Quick	r	,095	,100	-,071	-,037	,236**	-,224**	,134	,145*	,159*	,045	,034	,054	,173*
	p	,127	,116	,199	,331	,002	,003	,057	,044	,030	,299	,344	,263	,019
Fibrinogen	r	,010	-,112	-,024	-,156	-,067	-,075	-,015	-,050	-,079	-,255*	-,273**	-,246*	-,066
	p	,464	,165	,417	,087	,281	,256	,450	,335	,251	,014	,009	,017	,284
Anti-Thrombin III	r	-,014	,016	-,112	-,072	,027	-,151	,045	-,002	-,026	,090	,081	-,002	-,023
	p	,456	,449	,179	,279	,413	,108	,361	,494	,418	,239	,260	,494	,425
CRP	r	,116	,096	,163*	,137*	-,182**	,333**	-,252**	-,231**	-,186**	-,173**	-,182**	-,152*	-,203**
	p	,054	,094	,012	,029	,006	,000	,000	,001	,006	,009	,006	,019	,002
PCT	r	,038	,009	,150*	,095	-,245**	,373**	-,048	-,049	-,141	-,146*	-,173*	-,156*	-,012
	p	,325	,460	,037	,130	,002	,000	,289	,285	,050	,044	,021	,034	,442
IL-6	r	-,049	-,087	,090	,023	-,153*	,100	-,217**	-,180*	-,089	,010	-,002	,038	-,185*
	p	,279	,149	,139	,393	,033	,115	,005	,016	,145	,453	,489	,324	,013
LDH	r	,214**	,045	,327**	,119	-,068	,209*	,044	,044	-,046	-,047	-,055	-,017	,062
	p	,009	,312	,000	,098	,228	,011	,322	,321	,312	,309	,281	,430	,251
Ferritin	r	,020	-,075	-,055	-,033	-,090	,179*	-,008	,003	,031	-,163*	-,188*	-,187*	,036
	p	,416	,217	,283	,366	,176	,031	,468	,489	,377	,048	,027	,028	,354
Transferrin	r	-,102	-,060	-,221*	-,182*	,108	-,266**	,326**	,295**	,258**	,186*	,179*	,132	,266**
	p	,145	,267	,011	,029	,133	,003	,000	,001	,004	,029	,034	,091	,003

9. LITERATURVERZEICHNIS

KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients (2009). In: *Am J Transplant (American Journal of Transplantation)* 9 Suppl 3, S. S1-155.

Schematic diagram of a flow cytometer (2016). Online verfügbar unter https://en.wikipedia.org/wiki/Flow_cytometry_bioinformatics, zuletzt aktualisiert am 11.05.2016.

Abdala, Edson; Baía, Carlos Eduardo Sandoli; Mies, Sérgio; Massarollo, Paulo Celso Bosco; Paula Cavalheiro, Norma de; Baía, Vania Regina Mollo et al. (2007): Bacterial translocation during liver transplantation: A randomized trial comparing conventional with venovenous bypass vs. piggyback methods. In: *Liver Transpl* 13 (4), S. 488–496.

Anderson, Rebecca L.; Watson, Winsor H. 3rd; Chabot, Christopher C. (2013): Sublethal behavioral and physiological effects of the biomedical bleeding process on the American horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. In: *Biol Bull* 225 (3), S. 137–151.

Apotheken-Umschau (2014): Darstellung Nieren-Transplantation. Baierbrunn: Wort & Bild Verlag. Online verfügbar unter http://www.apotheken-umschau.de/Therapien/Transplantation-Durchfuehrung-233435_6.html, zuletzt geprüft am 17.12.2016.

BD BioSciences (2015): Fluorchrome / Laser Reference Poster.

Buttenschoen, Klaus; Radermacher, Peter; Bracht, Hendrik (2010): Endotoxin elimination in sepsis: physiology and therapeutic application. In: *Langenbecks Arch Surg* 395 (6), S. 597–605.

Caroff, Martine; Karibian, Doris (2003): Structure of bacterial lipopolysaccharides. In: *Carbohydrate Research* 338 (23), S. 2431–2447.

Carrero, Juan J.; Stenvinkel, Peter (2010): Inflammation in end-stage renal disease--what have we learned in 10 years? In: *Semin Dial* 23 (5), S. 498–509.

Carron, Clémence; Pais de Barros, Jean-Paul; Gaiffe, Emilie; Deckert, Valérie; Adda-Rezig, Hanane; Roubiou, Caroline et al. (2019): End-Stage Renal Disease-Associated Gut Bacterial Translocation: Evolution and Impact on Chronic Inflammation and Acute Rejection After Renal Transplantation. In: *Frontiers in Immunology* 10, S. 1630.

Cohen, Jonathan (2002): The immunopathogenesis of sepsis. In: *Nature* 420 (6917), S. 885–891.

Delude, Russell L. (2005): Flow cytometry. In: *Critical Care Medicine* 33 (Suppl), S. S426.

Deutsche Stiftung Organtransplantation (2016): Internet-Auftritt Nierentransplantation.

Drabinski, Thomas (2014): Nephrologische Versorgung in Deutschland: Bestandsaufnahme, Vergütung und Datengrundlage. Band 25. IfMDA Schriftenreihe. Kiel.

Frei, U.; Schober-Halstenberg, H.-J (2008): Nierenersatztherapie in Deutschland. Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2006/ 2007. QUASI Niere gGmbH. Berlin.

Goerlich, Nina; Brand, Hannah Antonia; Langhans, Valerie; Tesch, Sebastian; Schachtner, Thomas; Koch, Benjamin et al. (2020): Kidney transplant monitoring by urinary flow cytometry: Biomarker combination of T cells, renal tubular epithelial cells, and podocalyxin-positive cells detects rejection. In: *Sci. Rep.* 10 (1), S. 796.

Goncalves, Simone; Pecoits-Filho, Roberto; Perreto, Sonia; Barberato, Silvio H.; Stingham, Andréa E.M; Lima, Emanuel G.A; Fuerbringer, Roseana (2006): Associations between renal function, volume status and endotoxaemia in chronic kidney disease patients. In: *Nephrology Dialysis Transplantation* 21, S. 2788–2794.

Gover, Rajesh K.; Cheng, Julong; Peng, Yingjie; et al. (2012): The Costimulatory Immungen LPS Induces the B-Cell Clones that Infiltrate Transplanted Human Kidneys. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (16), S. 6036–6041.

H. Meng; Y. Liang; J. Hao; J. Lu (2018): Comparison of Rejection-Specific Genes in Peripheral Blood and Allograft Biopsy From Kidney Transplant. In: *Transplantation Proceedings* 50 (1), S. 115–123.

- Handy, J. M.; Scott, A. J.; Cross, A. M.; Sinha, P.; Oâ€™Dea, K. P.; Takata, M. (2010): HLA-DR expression and differential trafficking of monocyte subsets following low to intermediate risk surgery*. In: *Anaesthesia* 65 (1), S. 27–35.
- Heine, H.; Rietschel, E. Th; Ulmer, A. J. (2001): The Biology of Endotoxin. In: *Molecular Biotechnology* 19, S. 279–296.
- Hilmi, Ibtesam; Kellum, John A.; Planinsic, Raymond; Foster, Debra; Abdullah, Ali; Damian, Daniela et al. (2009): Endotoxemia is common following abdominal organ transplantation and is associated with reperfusion and rejection. In: *Journal of Organ Dysfunction* 5 (4), S. 254–260.
- Hurley, J. C. (1994): Concordance of endotoxemia with gram-negative bacteremia in patients with gram-negative sepsis: a meta-analysis. In: *J Clin Microbiol* 32 (9), S. 2120–2127.
- Hwang, Jeong Kye; Kim, Sang Il; Choi, Bum Soon; Yang, Cheol Woo; Kim, Yong Soo; Moon, In Sung; Kim, Ji Il (2011): Short-Term Results of ABO-Incompatible Living Donor Kidney Transplantation: Comparison with ABO-Compatible Grafts. In: *Journal of the Korean Surgical Society* 81, S. 10–18.
- Jager, Dinanda de; et al. (2009): Cardiovascular and nonvascular Mortality among Patients Starting Dialysis. In: *The Journal of the American Medical Association* 302 (16), S. 1782–1789.
- Kaden, Jürgen; May, Gottfried Völp Andreas; Wesslau, Claus (2011): Factors Impacting Short and Long-Term Kidney Graft Survival: Modification by Single Intra-Operative High-Dose Induction with ATG-Fresenius. In: *Annals of Transplantation* 16 (4), S. 81–91.
- Klein, David J.; Derzko, Anastasia; Foster, Debra; Seely, Andrew J. E.; Brunet, Fabrice; Romaschin, Alexander D.; Marshall, John C. (2007): Daily variation in endotoxin levels is associated with increased organ failure in critically ill patients. In: *Shock* 28 (5), S. 524–529.
- Kovesdy, Csaba P.; Kopple, Joel D.; Kalantar-Zadeh, Kamyar (2012): Inflammation in Renal Insufficiency. In: *UpToDate*, S. 1–19.
- Kramer, Anneke; Pippias, Maria; Stel, Vianda S.; Bonthuis, Marjolein; Abad Diez, José Maria; Afentakis, Nikolaos et al. (2016): Renal replacement therapy in Europe: a summary of the 2013 ERA-EDTA Registry Annual Report with a focus on diabetes mellitus. In: *Clin Kidney J* 9 (3), S. 457–469.
- Lau, Wei Ling; Kalantar-Zadeh, Kamyar; Vaziri, Nosratola D. (2015): The Gut as a Source of Inflammation in Chronic Kidney Disease. In: *Nephron* 130 (2), S. 92–98.
- Lemesch, Sandra; Ribitsch, Werner; Schilcher, Gernot; Spindelböck, Walter; Hafner-Gießauf, Hildegard; Marsche, Gunther et al. (2016): Mode of renal replacement therapy determines endotoxemia and neutrophil dysfunction in chronic kidney disease. In: *Sci. Rep.* 6, S. 34534.
- Lo, Denise J.; Kaplan, Bruce; Kirk, Allan D. (2014): Biomarkers for kidney transplant rejection. In: *Nature Reviews Nephrology* 10 (4), S. 215–225.
- Maring, J. K.; Klompaker, I. J.; Zwaveling, J. H.; van der Meer, J.; Limburg, P. C.; Slooff, M. J. (2000): Endotoxins and cytokines during liver transplantation: changes in plasma levels and effects on clinical outcome. In: *Liver Transpl* 6 (4), S. 480–488.
- Markum, H. M. S.; Suhardjono; Pohan, Herdiman T.; Suhendro; Lydia, Aida; Inada, Katsuya (2004): Endotoxin in patients with terminal renal failure undergoing dialysis with re-processing dialyser. In: *Acta Med Indones* 36 (2), S. 93–96.
- Marshall, John C.; Foster, Debra; Vincent, Jean-Louis; Cook, Deborah J.; Cohen, Jonathan; Dellinger, R. Phillip et al. (2004): Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. In: *J Infect Dis* 190 (3), S. 527–534.
- Marshall, John C.; Walker, Paul M.; Foster, Debra M.; et al (2002): Measurement of Endotoxin Activity in Critically Ill Patients Using Whole Blood Neutrophil Dependent Chemoluminescence. In: *Critical Care* 6 (4), S. 342–348.
- Munford, Robert S. (2016): Endotoxemia—menace, marker, or mistake? In: *Journal of Leukocyte Biology* 100 (4), S. 687–698.

- Potthoff, Frank; Münscher, Christof (2013): Jahresbericht Datenanalyse Dialyse für den Gemeinsamen Bundesausschuss - Berichtsjahr 2012.
- Potthoff, Frank; Münscher, Christof; Weber, Wolfgang; Gerß, Joachim (2015): Jahresbericht 2014 zur Qualität der Dialyse. MNC - Medical Netcare GmbH. Münster.
- Potthoff, Frank; Weber, Wolfgang; Berendes, Alexandra; Münscher, Christof (2018): Zusammenfassender Jahresbericht der Berichtersteller für das Berichtsjahr 2017. Münster. Online verfügbar unter https://www.g-ba.de/downloads/39-261-3487/2018-09-20_QSD-RL_MNC-Jahresbericht-2017.pdf
- Quereshi, A. Rashid; Alvestrand, Anders; Divino-Filho, José C.; Gutierrez, Alberto; Heimbürger, Olof; Lindholm, Bengt; Bergström, Jonas (2002): Inflammation, Malnutrition, and Cardiac Disease as Predictors of Mortality in Hemodialysis Patients. In: *Journal of the American Society of Nephrology* 13 (1), S. 28–36.
- Raj, Dominic S.C; Shah, Vallabh O.; Rambod, Mehdi; Kovesdy, Csaba P.; Kalantar-Zadeh, Kamyar (2009): Association of Soluble Endotoxin Receptor CD14 and Mortality Among Patients Undergoing Hemodialysis. In: *American Journal of Kidney Diseases* 54 (6), S. 1062–1071.
- Rensing, H. (2003): Endotoxin. In: *Anaesthetist* 52 (1 Supplement), S. 7–13.
- Romaschin, Alexander D.; Harris, David M.; Walker, Paul M. (1998): A Rapid Assay of Endotoxin in Whole Blood Using Autologous Neutrophil Dependent Chemiluminescence. In: *Journal of Immunological Methods* 212, S. 169–185. Online verfügbar unter <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022175998000039>.
- Romaschin, Alexander D.; Klein, David J.; Marshall, John C. (2012): Bench-To-Bedside Review: Clinica Experience with the Endotoxin Activity Assay. In: *Critical Care* 16 (6), S. 248–256.
- Ron T Gansevoort; Ricardo Correa-Rotter; Brenda R Hemmelgarn; Tazeen H Jafar; Hiddo J Lambers Heerspink; Johannes F Mann et al. (2013): Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. In: *The Lancet* 382 (9889), S. 339–352.
- Sabatino, Alice; Regolisti, Giuseppe; Brusasco, Irene; Cabassi, Aderville; Morabito, Santo; Fiaccadori, Enrico (2014): Alterations of intestinal barrier and microbiota in chronic kidney disease. In: *Nephrol Dial Transplant* 30 (6), S. 924–933.
- Schumann, R. R. (1992): Function of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein (LBP) and CD14, the receptor for LPS/LBP complexes: a short review. In: *Res Immunol* 143 (1), S. 11–15.
- Sellares, J.; Freitas, D. G. de; Mengel, M.; Reeve, J.; Einecke, G.; Sis, B. et al. (2012): Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. In: *Am J Transplant* 12 (2), S. 388–399.
- Silverstein, Douglas M. (2009): Inflammation after renal transplantation: Role in the development of graft dysfunction and potential therapies. In: *Journal of Organ Dysfunction* 5 (4), S. 233–241. Online verfügbar unter <http://dx.doi.org/10.3109/17471060802302339>.
- Solez, K.; Colvin, R.B; Racusen, L.C; et al (2008): BANFF 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions. In: *American Journal of Transplantation* 8 (4), S. 753–760.
- Solomon, Susan; Pitossi, Fernando; Rao, Mahendra S. (2015): Banking on iPSC- Is it Doable and is it Worthwhile. In: *Stem Cell Rev* 11 (1), S. 1–10.
- Stenvinkel, Peter (2006): Inflammation in end-stage renal disease: the hidden enemy. In: *Nephrology (Carlton)* 11 (1), S. 36–41.
- Su, W.; Ding, X. (2015): Methods of Endotoxin Detection. In: *Journal of Laboratory Automation* 20 (4), S. 354–364.
- Suzuki, Hiroki; Honda, Hirokazu; Kato, Noriyuki; Michihata, Tetsuo; Takahashi, Keiko; Shishido, Kanji; Akizawa, Tadao (2011): Assessment of Inflow of Endotoxin and Its Fragments in Patients on Maintenance Hemodialysis. In: *Blood Purif* 31 (4), S. 268–275.

Terawaki, Hiroyuki; Yokoyama, Keitaro; Yamada, Yukiko; et. al. (2010): Low-Grade Endotoxemia Contributes to Chronic Inflammation in Hemodialysis Patients: Examination With a Novel Lipopolysaccharide Detection Method. In: *Therapeutic Apheresis and Dialysis* 14 (5), S. 477–482.

Texas Transplant Institute (2012): Pre Kidney Transplant Education Manual. Hg. v. Texas Transplant Institute, Department of Methodist Hospital. San Antonio.

Wanner, Christoph; Amann, Kerstin; Shoji, Tettsuo (2016): The Heart and Vascular System in Dialysis. In: *Lancet* 388, S. 276–284.

Weaver, Donald J.; Mitsnefes, Mark M. (2009): Inflammation and Cardiovascular Complications in Chronic Kidney Disease. In: *Journal of Organ Dysfunction* 5, S. 208–217.

Weiss, J. (2003): Bactericidal/Permeability-Increasing Protein (BPI) and Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP): Structure, Function and Regulation in Host Defence Against Gram-negative Bacteria. In: *Biochemical Society Transactions* 31 (4), S. 785–790.

Wiese, A.; Brandenburg, K.; Ulmer, A. J.; Seydel, U.; Muller-Loennies, S. (1999): The dual role of lipopolysaccharide as effector and target molecule. In: *Biol Chem* 380 (7-8), S. 767–784.

Wong, Jonathan; Jeraj, Hassan; Vilar, Enric; Viljoen, Adie; Farrington, Ken (2014): Endotoxin detection in end-stage kidney disease. In: *J Clin Pathol* 68 (1), S. 73–78.

Wong; Jonathan; Vilar, Enric; Farrington, Ken (2015): Endotoxemia in End-Stage Kidney Disease. In: *Seminars in Dialysis* 28 (1), S. 59–67.