Universitätsklinikum Ulm, Klinik für Anästhesiologie,

Prof. Dr. med. Dr. med. h.c. Michael Georgieff

Oberflächenmarkerexpressionsmuster von polymorphkernigen Granulozyten von Patienten mit entzündlichen bzw. nicht- entzündlichen Entzündungsreaktionen, d. h. Hämophagozytischer Lymphohistiozytose, Langerhanszellhistiozytose, Overtrainingsyndrom, Sepsis und Polytrauma

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

eingereicht von Zehra Güldü

aus Leonberg

2014

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. Manfred Weiss

Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. Markus Huber- Lang

Tag der Promotion: 24.04.2015

meinen Eltern

Feyzi und Monika

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis I

Abkürzungsverzeichnis III

1. Einleitung 1

1.1. Das Immunsystem 1

1.2. Zellen des Immunsystems 2

1.2.1. PMN 2

1.3. CD- Marker 4

1.3.1. CD 16 4

1.3.2. CD 88 4

1.3.3. CD 64 5

1.3.4. CD 66b 5

1.3.5. CD 11b 6

1.3.6. CD 95 6

1.3.7. CD 33 6

1.3.8. CD 39 7

1.3.9. Il- 17RA 7

1.3.10. TLR- 2 und TLR- 4 8

1.3.11. HLA- DR 8

1.4. Krankheitsbilder 9

1.4.1. HLH 9

1.4.2. LCH 10

1.4.3. OTS 11

1.4.4. SIRS/ Sepsis 11

1.4.5. Polytrauma 12

1.5. Fragestellung 13

2. Material und Methoden 14

2.1. Patientenkollektiv 14

2.2. Materialien 19

2.3. Typisierungsverfahren 20

2.4. Scores 23

2.5. Statistik 24

2.6. Software 26

3. Ergebnisse 27

3.1. Ergebnismuster der einzelnen Patientengruppen und Vergleich mit dem gesunden Probandenkollektiv 28

3.1.1. CD- Marker Profil der gesunden Vergleichsgruppe 28

3.1.2. CD- Marker Profil der HLH- Patienten 30

3.1.3. CD- Marker Profil der LCH- Patienten 35

3.1.4. CD- Marker Profil der OTS- Patienten 39

3.1.5. CD- Marker Profil der Sepsis- Patienten 44

3.1.6. CD- Marker Profil der Polytrauma- Patienten zum Zeitpunkt von 24h nach Trauma 48

3.2. Übergeordnete Vergleiche aller Patientengruppen 52
3.3. Polytrauma- Verläufe 57
3.3.1. Scoring- Ergebnisse der PT- Patienten 69
4. Diskussion 72
4.1. inhaltliche Analyse 72
4.1.1. Auswertung der signifikanten Unterschiede zwischen „gesund“ und „krank“/ der CD-Marker- Profile 72
4.1.2. Auswertung des Gesamtgruppenvergleichs 87
4.1.3. Auswertung der Polytrauma- Verläufe 89
4.2. Methoden- Analyse 96
4.2.1. Überlegungen zum Patientenkollektiv 96
4.2.2. Überlegungen zur experimentellen Methodik/ zum Typisierungsverfahren 98
4.3. Schlussfolgerung 98
5. Zusammenfassung 106
6. Literaturverzeichnis 108
Danksagung 121

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
APC	Antigen- präsentierende Zelle
APO 1	Apoptosis Antigen 1
APRIL	A Proliferation- inducing Ligand
ATP	Adenosintriphosphat
CD	Cluster of Differentiation
CEA	Carcinoembryonic Antigen
CEACAM	Carcinoembryonic Antigen- related Cell Adhesion Molecule
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FADD	Fas associated Death Domain Protein
FAS	Fibroblast associated Surface Antigen
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
FSC	Vorwärtsstreuung
G-CSF	Granulocyte- Colony Stimulating Factor
GM-CSF	Granulocyte- Makrophage- Colony Stimulating Factor
HLA	Human Leukocyte Antigen
HLH	Hämophagozytische Lymphohistiozytose
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin

ISS	Injury Severity Score
ITIM	Immunoreceptor Tyrosine- based Inhibitory Motif
LCH	Langerhanszellhistiozytose
MAC1	Macrophage-1 Antigen
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MFI	Mean Fluorescence Intensity
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MODS	Multiple Organ Dysfunction Syndrome
MOV	Multiorganversagen
NET	Neutrophil extracellular traps
NF-κB	Nuclear Factor of kappa light chain gene enhancer in B-cells
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NTPDase-1	Ecto- Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase
OTS	Overtrainingsyndrom
PAMP	Pathogen Associated Molecular Pattern
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PE	Phycoerythrin
PMN	Polymorphkernige neutrophile Granulozyten
PRM	Pattern Recognition Molecules
PRR	Pattern Recognition Receptor
PT	Polytrauma
RANKL	Receptor Activator of NF-κB Ligand
ROI	Reactive Oxygen Intermediates

RPM	Rounds per minute
SAPS	Simplified Acute Physiology Score
SEFIR	Similar expression to FGF- Receptor, Il- 17R and TIRs
Siglecs	Sialic acid- binding Immunoglobulin- type Lectins
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
SSC	Seitwärtsstreuung
TGF	Transforming Growth Factor
TH Zelle	T- Helfer Zelle
TIR	Toll/Interleukin- 1- Rezeptor
TLR	Toll- like- Rezeptor
TNF	Tumornekrosefaktor

1. Einleitung

1.1. Das Immunsystem

Der menschliche Körper besteht aus einem Komplex verschiedener Systeme, die bis ins kleinste Detail aufeinander abgestimmt sind und miteinander kommunizieren. Eines dieser großen Systeme des Körpers ist das Immunsystem. Es setzt sich aus Bausteinen zusammen, deren gemeinsame Aufgabe es ist, fremde oder auch körpereigene Strukturen, die den Organismus gefährden, zu bekämpfen und ihn so zu schützen.

Dafür lässt es sich in zwei funktionelle Einheiten aufteilen. Eine Einheit ist das unspezifische Immunsystem, das für die erste Phase der Immunabwehr entscheidend ist. Es ist angeboren und besteht aus humoralen und zellulären Komponenten. Werden die ersten natürlichen Barrieren des unspezifischen Immunsystems wie zum Beispiel eine intakte Haut, bakterizide Körpersekrete (Lysozym, Magensäure etc.) oder beispielsweise physikalische Komponenten (Hustenreiz, Flimmerepithel etc.) überwunden, kommen die Zellen des angeborenen Immunsystems zum Einsatz. Die wichtigsten zellulären Komponenten sind die Granulozyten, die Makrophagen und die NK- Zellen. Durch ihre Aktivierung werden verschiedene Abwehrmechanismen in Gang gesetzt. Mittels Phagozytose kann ein großer Teil der Pathogene an dieser Stelle schon eliminiert werden. Ist dies nicht der Fall, können weitere Immunzellen rekrutiert werden [68]. Die zweite Einheit stellt das erworbene oder adaptive Immunsystem dar. Es greift erst später ein, dafür jedoch spezifischer durch eine individualisierte Antwort auf pathogene Strukturen. Als zelluläre Komponenten sind hier B- und T- Lymphozyten tätig. Das erworbene Immunsystem verfügt über die Besonderheit zwischen ca. 10^{15} (für den T-Zellbereich) und 10^{11} (für den B-Zellbereich) Antigenen unterscheiden zu können. Diese hohe Spezifität, die Bildung eines „Immungedächtnis“, sowie die Unterscheidbarkeit zwischen Selbst und Nicht- Selbst zeichnen das adaptive Immunsystem aus [42].

Nur durch beide Einheiten des Immunsystems, angeboren und erworben, und ihr gelingendes Zusammenwirken kann ein ausreichender Schutz gegen schädigende Strukturen erwirkt und ein Überleben des Organismus gewährleistet werden.

1.2. Zellen des Immunsystems

Alle Zellen des Immunsystems entstammen einer Population multipotenter hämatopoietischer Stammzellen des Knochenmarks. Diese differenzieren sich zu Progenitorzellen der lymphatischen oder der myeloischen Zellreihe. Damit ist der Weg der einzelnen Zelle festgelegt und eine weitere Entwicklung zur ausdifferenzierten Immunzelle kann stattfinden. Die myeloische Progenitorzelle beispielsweise differenziert sich zur Megakaryozyten/ Erythrozyten- Progenitorzelle oder zur Granulozyten/ Monozyten-Progenitorzelle. Letztere kann sich dann zu einem neutrophilen Granulozyten weiterentwickeln [44].

1.2.1. PMN

In vorliegender Arbeit sollen die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten, die sogenannten PMN, untersucht werden. PMN sind enddifferenzierte, kurzlebige Zellen, die den Großteil aller Leukozyten im peripheren Blut ausmachen (ca. 50%- 70%). Pro Tag werden ungefähr 10^{11} neutrophile Granulozyten aus dem Knochenmark rekrutiert. Sie sind die primäre Antwort des Immunsystems und wandern bei Stimulation aus dem Blut in das Gewebe direkt zum Ort des Inflammationsgeschehens (sog. Diapedese). Eine ihrer Hauptaufgaben ist die Phagozytose, bei der extrazelluläre Pathogene aufgenommen und durch Bildung von Phagolysosomen zerstört werden. Um pathogene Strukturen überhaupt entdecken zu können und auf Gewebsschädigungen reagieren zu können, besitzen Neutrophile die sogenannten PRRs (Pattern Recognition Receptors) wie z.B. die Toll- like-Rezeptoren. PMN besitzen außerdem primäre/ azurophile, sekundäre/ spezifische und tertiäre/ Gelatinase- Granula, welche mit verschiedenen Substanzen gefüllt sind und bei bestimmten Signalen entleert werden können. Dies passiert dann, wenn Neutrophile pathogene Strukturen nicht direkt erreichen können und deshalb den extrazellulären Raum als Austragungsort des Kampfes gegen den Erreger benutzen müssen. So kann aus sekundären Granula unter anderem Lactoferrin ausgeschüttet werden, das Eisen-abhängigen Bakterien das Eisen entzieht und sie damit bekämpft. PMN sind in der Lage ROI (Reactive Oxygen Intermediates) zu produzieren, die antimikrobiell eingesetzt werden können [56]. Eine weitere Besonderheit der Neutrophilen ist ihre Fähigkeit sogenannte NETs (Neutrophil extracellular traps) auszubilden. Die NETs kann man sich als eine Art von Netz vorstellen, in denen sich Pathogene verfangen und so beseitigt werden können. Neutrophile beschränken sich nicht nur darauf, die zelluläre Komponente des angeborenen Immunsystems darzustellen. Durch ihre Fähigkeit PRMs (Pattern Recognition Molecules)

freizusetzen, die die Phagozytose verstärken und das Komplementsystem aktivieren können, sind sie auch Teil der humoralen Abwehr.

Mittlerweile weiß man, dass dies bei weitem nicht die einzigen Funktionen der Neutrophilen sind. Im Laufe der letzten Jahre ist man immer weiter vom Bild einer nur Phagozytose ausführenden, Granula- ausschüttenden Zelle weggekommen: Neutrophile sind in die Aktivierung und in die Regulation der angeborenen, aber auch der erworbenen Immunabwehr verwickelt und haben weitaus mehr kontrollierende und steuernde Funktion als gedacht.

Sie exprimieren eine große Zahl an Chemokinen (CXCL1-6, CXCL8-11), an pro- und antiinflammatorischen Zytokinen (proinflammatorisch z.B. Il-1α, Il-1β; antiinflammatorisch z.B. Il- 1RA, TGFβ1 und 2), an angiogenen und fibrogenen Faktoren und an Zytokinen, die der TNF- Superfamilie angehören (z.B. APRIL oder RANKL) [10,23,65].

PMN stehen in Wechselwirkung mit Makrophagen, dendritischen Zellen, NK- Zellen, sowie B- und T- Lymphozyten. Sie können dendritische Zellen aktivieren oder NK- Zellen zu einer erhöhten Zytokinproduktion bewegen. Sie können Makrophagen aktivieren und ihre Differenzierung fördern. T- Zellen und PMN können sich gegenseitig beeinflussen, da die lymphozytäre Ausbreitung in Inflammationsgebieten durch Neutrophile gehemmt oder gefördert werden kann. Gleichzeitig können Zellen des adaptiven Immunsystems diese Wege reziprok kontrollieren, in dem sie über die Ausschüttung von Il- 17 die Produktion von granulopoietischen Faktoren (z.B. G- CSF) und damit die Granulozytenbildung stimulieren. Il- 17 wiederum kann von Il- 23, welches von Makrophagen ausgeschüttet wird, reguliert werden. Das heißt zusammengefasst, dass Makrophagen, Neutrophile und T- Lymphozyten sich in einem Kreislauf gegenseitig regulieren. Auf diese Weise wird eine der vielen Brücken zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem erkennbar und bestätigt die Annahme, dass beide Teile der Immunabwehr sich gegenseitig überlappen und ineinandergreifen. Letzten Endes sind die PMN auch an der Begrenzung der Inflammationsreaktion beteiligt, indem sie unter anderem Lipidmediatoren ausschütten, die die Apoptose der neutrophilen Zellen triggern und weitere anti- inflammatorische Prozesse in Gang setzen [56,46].

1.3. CD- Marker

Die CD- Nomenklatur (CD = Cluster of Differentiation) ist eine Auflistung aller derzeit bekannten Oberflächenantigene, die sich auf Zellen des Immunsystems finden lassen. Durch ein internationales Standardisierungskomitee wird sie regelmäßig aktualisiert. Derzeit sind mehr als 300 Antigene darin aufgeführt.

Jede Zelle exprimiert an ihrer Oberfläche für sie charakteristische CD- Marker, die eine Unterscheidung zu anderen Zellpopulationen oder zu gleichartigen Zellen, die sich in unterschiedlichem Differenzierungs- oder Aktivierungszustand befinden, ermöglichen. Durch den Einsatz von Antikörpern können diese Antigene erkenntlich gemacht werden. Der prozentuale Anteil an CD+- Zellen (% Gated) oder die mittlere CD- Expressionsdichte (MFI) auf Zellen können mittels des Verfahrens der Durchflusszytometrie genauestens bestimmt werden: Ein spezieller Phänotyp der einzelnen Zelle wird sichtbar und Vorgänge innerhalb der Zelle können indirekt durch ihre CD- Marker an der Oberfläche widergespiegelt werden [42].

Im Folgenden sollen ausgewählte CD- Marker genauer vorgestellt werden.

1.3.1. CD 16

CD 16 (FcγRIII) ist ein Mitglied der IgG- Fc- Rezeptorfamilie und existiert in zwei Formen. Die Form FcγRIIIa ist ein transmembranärer Rezeptor auf NK- Zellen und Monozyten, die Form FcγRIIIb findet sich auf PMN und stellt einen Glycosyl-Phosphatidylinositol- verankerten Rezeptor dar. Beide haben eine niedrige Affinität. Bei Bindung eines IgG- Fragments an CD 16 einer neutrophilen Zelle wird diese aktiviert. Es kommt zur Phagozytose, zur Bildung von ROI und/ oder zur Ausschüttung von Granula in den Extrazellulärraum. CD 16 ist sowohl auf ruhenden, als auch auf aktivierten PMN zu finden, messbar ist jedoch ein schneller Abfall der CD 16- Expression und die Freisetzung einer löslichen Variante des Markers (sCD16) bei Aktivierung der Zellen [52,67,79].

1.3.2. CD 88

Der Oberflächenmarker CD 88 ist ein G- Protein- gekoppelter Rezeptor des Komplementfaktors C5a und wird deshalb auch als C5aR bezeichnet. Er ist auf myeloiden Zellen wie den Monozyten, Makrophagen und den Neutrophilen zu finden, jedoch auch auf einer Reihe an nicht-myeloiden Zellen [53]. Das Anaphylatoxin C5a nimmt eine zentrale Rolle im Komplementsystem des angeborenen Immunsystems ein. Es ist ein chemotaktischer Faktor für alle Zellen mit CD88- Expression [42]. In PMN fördert es die

Freisetzung von ROI und Granula. Außerdem erhöht es die Zahl der Adhäsionsmoleküle auf Neutrophilen, sodass sie an Endothelzellen anhaften können. Während in vitro- Studien zeigten, dass durch Endotoxin eine Hochregulation von C5aR auf Granulozyten bewirkt werden kann, wurde in einer Studie zur Untersuchung von CD 88- Expression auf Granulozyten von septischen Patienten eine Reduktion der Rezeptorexpression als Ergebnis vermerkt [22].

1.3.3. CD 64

CD 64 wird auch FcγRI genannt und ist wie CD 16 ein Mitglied der IgG- Rezeptorfamilie. Er bindet IgG mit hoher Affinität. Mit einer Spezifität zwischen 90- 100% und einer Sensitivität von 90% und mehr ist CD 64 ein zuverlässiger Marker für Infektion und Sepsis. Während auf reifen, ruhenden PMN CD 64 nur in geringem Maße exprimiert wird, steigt bei Aktivierung der PMN durch proinflammatorische Zytokine wie IFNγ oder G-CSF (die z.B. durch Infektionen oder Endotoxin- bedingt gebildet werden) CD 64 rapide an. Der Anstieg ist innerhalb von 4-6 Stunden vollzogen [33]. Zwar bewirken virale Infektionen geringere CD- Anstiege, trotzdem kann CD 64 nicht sicher zwischen bakterieller und viraler Infektion unterscheiden. Genauso wenig vorhersagekräftig ist er bezüglich dessen, ob es sich um lokale oder systemische Infektionen handelt [57].

1.3.4. CD 66b

CD 66b wird auch als CEACAM 8 (Carcinoembryonic Antigen- related Cell Adhesion Molecule 8) bezeichnet und gehört zur CEA- (Carcinoembryonic Antigen) Familie. Dieser CD- Marker ist, wie auch CD66c, über einen Glycosyl- Phosphatidyl- Inositol- Anker mit der Zellmembran verbunden und wird konstitutiv auf Granulozyten gebildet. Bei Aktivierung von PMN steigt die Oberflächenexpression stark an, sodass man ihn auch als PMN- Aktivierungsmarker bezeichnen kann. Die genaue Funktion von CD 66b ist noch nicht vollständig bekannt, man weiß jedoch, dass bei Ligandenbindung ein Aktivierungssignal weitergegeben wird, welches die Adhäsionsaktivität von CD 11/ CD 18 reguliert und beispielsweise in Endothelzellen von Umbilicalvenen eine erhöhte Neutrophilenadhäsion bewirkt [71,70]. Außerdem ist CD 66b ein möglicher Rezeptor für Galectin- 3, ein Lectin, das bei Inflammationsgeschehen hochreguliert wird und unter anderem bei der Induktion der ROI- Bildung in PMN mitwirkt [19]. Es konnte gezeigt werden, dass PMN einen intrazellulären IL- 8- Speicher besitzen, den sie bei Bindung eines Liganden an CD 66b ausschütten. Dies versetzt die PMN in eine Art von voraktivierten Zustand und bewirkt zugleich die Chemotaxis anderer Zellen als eine

Vorbereitung auf eine angemessene Immunantwort bei Ankunft im Entzündungsgebiet. Bei Kontakt mit dem eigentlichen Pathogen dort kann dann eine vollständige Aktivierung stattfinden [66].

1.3.5. CD 11b

Der Oberflächenmarker CD11b findet sich auf myeloiden Zellen wie den Monozyten, den Makrophagen und den PMN, aber auch auf Zellen der lymphoiden Zellreihe wie den NK-Zellen. Es bildet als α- Bestandteil zusammen mit CD 18, dem β- Bestandteil, das Adhäsionsmolekül Mac 1. Mac 1 gehört zu der β- Subfamilie der Integrine. Durch die Proteinfamilie der Integrine erfolgt die Anhaftung von Leukozyten ans Endothel, wodurch Entzündungszellen wie die PMN zum Ort der Entzündung ins Gewebe hinein rekrutiert werden können. Mac 1 wird außerdem als CR 3 bezeichnet. Diese Bezeichnung CR 3 steht für die Funktion als Komplementrezeptor, der C3b auf Phagozyten bindet und damit die Phagozytose in Gang setzt [42]. CD 11b wirkt folglich bei der Adhäsion und Migration von Leukozyten ins Gewebe, aber auch bei der Phagozytose mit. Neben den sich auf der Zelle befindlichen Oberflächenmarkern, besitzen die Zellen einen sehr großen intrazellulären CD11b- Speicherpool. Er wird entleert, wenn die Zelle aktiviert wird. Auf diese Weise steht schnell sehr viel CD11b zur Verfügung [3].

1.3.6. CD 95

CD 95 wird auch APO- 1 oder FAS genannt und gehört zur Gruppe der TNF- R-Superfamilie (Tumornekrosefaktor- Rezeptor- Familie). Durch Bindung des Liganden FASL wird der Rezeptor- abhängige, extrinsische Apoptoseweg über das Adaptermolekül FADD (FAS associated Protein with a Death Domain) und die Caspasen 8 und 3 aktiviert. CD 95 wird konstitutiv auf Lymphozyten, aber auch auf Neutrophilen exprimiert, während der Ligand FASL hauptsächlich auf aktivierten T- Lymphozyten vorkommt [42,38].

1.3.7. CD 33

CD 33 wird auch als Siglec- 3 bezeichnet und ist Teil der Familie der Sialinsäure-abhängigen Adhäsionsrezeptoren. Es ist das kleinste Mitglied und verfügt über zwei Ig-ähnliche extrazelluläre Domänen, sowie zwei ITIM (Immunoreceptor Tyrosine- based Inhibitory Motif)- ähnliche Strukturen in der intrazellulären Domäne. Die ITIM-Strukturen ermöglichen CD 33 als inhibitorischer Rezeptor Teil des Regulationsmechanismus des Immunsystems zu sein. CD 33 wird auf Zellen der myeloiden Zellreihe exprimiert: Auf myeloischen Vorläuferzellen im Knochenmark und

auch auf zirkulierenden Monozyten ist die Expression besonders hoch, während auf peripheren Granulozyten und Makrophagen nur geringe Level an CD 33 bestehen. Ein konstitutives Vorkommen ist auf den dendritischen Zellen bekannt. Dieser Ausprägungsgrad ist Hinweis darauf, dass CD 33 eine Rolle bei der Zelldifferenzierung myeloider Zellen spielt. Eine gesplicte Variante dieses CD- Markers befindet sich außerdem auf bestimmten Zellen der lymphatischen Reihe (NK- Zellen und T- Zellen) [14,31].

1.3.8. CD 39

CD 39 wird auch NTPDase- 1 (ecto- Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase) genannt, da es ein Oberflächenenzym auf bestimmten Zellen ist, das ATP und ADP zu AMP metabolisieren kann. Auf über 90% der Monozyten, B- Lymphozyten und PMN wird CD 39 exprimiert und auf ungefähr 6% der T- Lymphozyten und NK- Zellen. Die Dichte an CD 39 auf den Zellen variiert relativ stark. Die höchste Expression haben Monozyten und B- Lymphozyten, an zweiter Stelle liegen die PMN und am geringsten ist CD39 auf den T- Lymphozyten ausgeprägt. Bei Aktivierung kann durch die Bildung von AMP ein antithrombotischer und antiinflammatorischer Effekt erzielt werden. Da ATP und Adenosin gegensätzliche Effekte haben, übernimmt CD 39 folglich durch die Fähigkeit der Umwandlung eine entscheidende regulierende Funktion beim Inflammationsgeschehen [62].

1.3.9. Il- 17RA

Il- 17RA gehört zur Interleukin- 17-Familie gemeinsam mit 4 weiteren Rezeptoren (Il- 17RB bis Il- 17RE) und 6 Zytokinen (Il- 17A bis Il- 17F) [87]. Die Rezeptoren der Il- 17- Familie bilden Komplexe, die unterschiedliche Bindungsaffinitäten für die einzelnen Subgruppen der Il- 17- Zytokine haben. Beispielsweise bilden Il- 17RA und Il- 17RC einen Rezeptorkomplex, der Il- 17A und Il- 17F binden kann. Bindet einer der Rezeptoren den entsprechenden Liganden, erhöht sich die Affinität des anderen für seinen Liganden. Il- 17RA hat eine höhere Bindungsneigung zu Il- 17A als zu Il- 17F, während Il- 17RC beide mit gleicher Affinität bindet [24]. Il- 17 wird, u.a. durch Il- 23- Expression, von einem bestimmten CD4+- Zell- Typ gebildet, den TH17- Zellen. Der Weg der Signaltransduktion bei Bindung von Il- 17 an den Rezeptor ist noch weitgehend unbekannt, man weiß jedoch, dass alle Rezeptoren eine sogenannte SEFIR- Domäne besitzen, die Ähnlichkeiten mit der TIR- Domäne von TLR und Il-1- Rezeptoren aufweist. Auch weiß man, dass Il- 17

Mediatoren aktivieren, die die Granulopoiese, sowie die Aktivierung und Rekrutierung von Neutrophilen zu Entzündungsgebieten fördern [46,87].

1.3.10. TLR- 2 und TLR- 4

Die Familie der TLR (= Toll- like Rezeptoren) besteht aus 10 transmembranären Rezeptoren. Sie besitzen jeweils eine extrazelluläre Domäne, die spezifische PAMPS (Pathogen- associated Molecular Patterns) bindet und einen intrazellulären Anteil, welcher bei Bindung eines solchen Bakterienmusters eine Signalkaskade auslöst, die u.a. zu der Induktion proinflammatorischer Zytokine führt. TLR- 2 (CD 282) und TLR- 4 (CD284) erkennen hauptsächlich bakterielle Pathogene [76]. Sie sitzen unter anderem in der Plasmamembran von Monozyten, NK- Zellen, Mastzellen und dendritischen Zellen. TLR-4 erkennt Lipopolysaccharide von gram-negativen Bakterien und bindet diese. Währenddessen ist TLR- 2 beispielsweise in der Lage, auf Peptidoglykane, Lipopeptide und Lipoproteine von gram- positiven Bakterien sowie auf Lipopeptide von Mykoplasmen zu reagieren [36,69].

1.3.11. HLA- DR

HLA steht für humanes Leukozytenantigen und ist das menschliche der MHC (Major Histocompatibility Complex)- Systeme. HLA- DR gehört zur Klasse II dieser Zelloberflächenproteine und kommt konstitutiv auf Antigen- präsentierenden Zellen wie den dentritischen Zellen, den Makrophagen und den B- Zellen vor. Extrazelluläre Pathogene werden von APC erkannt, internalisiert und für die Präsentation vorbereitet. Die Aufgabe von HLA- DR besteht dann darin, die Präsentation des aufbereiteten Antigens für die Erkennung durch T- Zellen auszuführen [42].

1.4. Krankheitsbilder

In den folgenden Abschnitten sollen die in dieser Arbeit behandelten Krankheitsbilder genauer beschrieben werden.

1.4.1. HLH

Der Begriff HLH steht für die hämophagozytische Lymphohistiozytose und beschreibt ein lebensbedrohliches Syndrom basierend auf einem außer Kontrolle geratenen, ineffektiven Immunsystem mit Hyperinflammation. Man unterscheidet angeborene von erworbenen Formen. Eine weitere Untergliederung in Subgruppen sieht wie folgt aus:

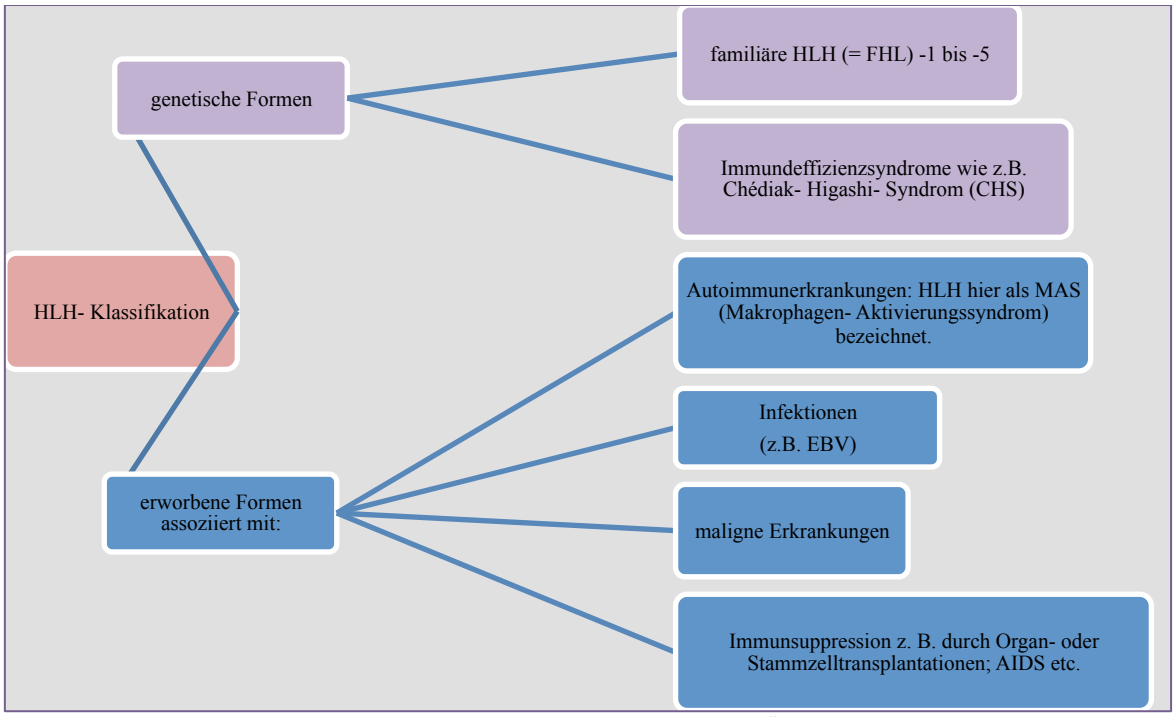

Abbildung1: Klassifikation der HLH (hämophagozytische Lymphohistiozytose) in der Übersicht, EBV= Ebstein- Barr- Virus; AIDS= Acquired Immune Deficiency Syndrome; FHL= familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose

Die angeborenen Formen sind hauptsächlich auf Immundefekte durch Mutation der für zytotoxische Prozesse von NK- Zellen und T- Zellen codierenden Gene (z.B. im Perforin-Gen PFR- 1 der HLH- 2- Form) zurückzuführen. Während bei der FHL das HLH-Syndrom die erste und einzige Manifestation ist, tritt bei den Immundeffizienzsyndromen nicht zwangsläufig das klinische Bild einer HLH auf.

Die verschiedenen Pathomechanismen der erworbenen Varianten sind noch weitgehend ungeklärt. Es scheint jedoch bestimmte Erkrankungen zu geben, die eine triggernde Funktion einnehmen (siehe Tabelle oben). Diagnosekriterien einer HLH sind, soweit keine genetischen Prädispositionen/ Defekte bekannt sind, klinisch oder mittels Laboruntersuchungen festzustellen. Dazu zählen Fieber, Splenomegalie, Zytopenie bei

mindestens 2 oder mehr Zellreihen, Hypertriglycerinämie und/ oder Hyperfibrinogenämie, verringerte Ferritin- Werte, erhöhte sCD 25- Werte, verringerte oder nicht vorhandene NK-Zell- Aktivität und eine nachgewiesene Hämophagozytose im Knochenmark, im Liquor oder in Lymphknoten [35,7]. Diese charakteristischen klinischen Zeichen und Laborparameter ähneln denen der Patienten mit Sepsis, SIRS oder MODS, was eine Unterscheidung oftmals schwierig macht [9].

1.4.2. LCH

LCH (Langerhanszellhistiozytose), früher auch als Histiozytosis X bezeichnet, beschreibt eine proliferative Erkrankung mit Akkumulation von Zellen, die denen der Langerhans-Zellen in der Epidermis ähneln. Neueste Studien deuten darauf hin, dass es sich wohl weniger um ausgereifte Langerhans- Zellen selbst, als vielmehr um aus der myeloiden Zellreihe stammende Vorläuferzellen handelt, die gemeinsame Oberflächenmarker besitzen (CD 1a, CD 207). Die LCH tritt überwiegend im Kindesalter auf, kann aber jede Altersgruppe betreffen. Es werden drei Formen voneinander unterschieden. Die lokalisierte Form ist das eosinophile Granulom, welches aus einem oder mehreren lytischen Knochenläsionen besteht, in denen Histiozyten und eosinphile Granulozyten akkumulieren. Eine weitere Form ist die Hand- Schüller- Christian- Erkrankung mit der Trias Knochendefekte, Polyurie und Exophtalmus hervorgerufen durch Infiltration der Zellen in den Hypophysenstiel. Die dritte Form wird als Letterer- Siwe- Erkrankung bezeichnet und besteht aus einer ausgeprägten Akkumulation von Histiozyten in vielen verschiedenen Organen des Körpers. Die Pathogenese der LCH ist Gegenstand neuester Studien und nicht vollständig geklärt. Die akkumulierenden Zellen weisen einen pathologischen Phänotyp auf. Sie besitzen Chemokinrezeptoren (z.B. CCR6), die bei aktivierten Zellen normalerweise nicht auftreten. Außerdem besitzen sie CD- Marker aktivierter Zellen (u.a. CD 11b) und weitere Merkmale einer Aktivierung, während gleichzeitig Eigenschaften einer ruhenden Zelle (z.B. Birbeck- Granula, die in der Regel bei Aktivierung verloren gehen) nachgewiesen werden können. Dies sind Hinweise darauf, dass die LCH auf einem Reifungsdefekt der betroffenen Zellen beruhen. Als Folge kommt es zu einer gestörten interzellulären Kommunikation zwischen ihnen und anderen Immunzellen [5,86].

1.4.3. OTS

OTS steht für das sogenannte Overtrainingsyndrom von Leistungssportlern, das typischerweise gekennzeichnet ist durch anhaltende Erschöpfung und Leistungsschwäche. Zusätzlich weisen Betroffene oftmals gleichzeitig psychische Komponenten wie Depressionen bzw. Stimmungsschwankungen, Schlafstörungen, Appetitverlust und Libidoverlust aber auch weitere physische Komponenten wie Gewichtsverlust, einen erhöhten Ruhepuls, vermehrtes Schwitzen und eine höhere Infektionsrate auf. Auch die Hormonkonzentrationen scheinen verändert: erhöhte Cortisol und erniedrigte Testosteronspiegel konnten nachgewiesen werden. Voraussetzung für die Diagnosestellung des OTS ist die mehr als zwei Wochen andauernde Symptomatik trotz Erholungspause und der Ausschluss anderer Erkrankungen. Bei jeder Art von intensivem körperlichem Training können vorübergehend Symptome in gleicher Art auftreten, diese verschwinden nach adäquater Erholung jedoch wieder, da sich der Körper adaptiert und die erhöhte Stresssituation toleriert. Bei OTS- Patienten ist die Problematik jedoch anhaltend und bedarf einer verlängerten Erholungszeit, bzw. ist andauernd, wenn das Training trotzdem unverändert fortgesetzt wird [8,45].

1.4.4. SIRS/ Sepsis

SIRS ist eine komplexe, generalisierte Inflammationsreaktion hervorgerufen durch einen lokalen Entzündungsprozess, welcher sich auf den gesamten Organismus ausgebreitet hat. Ursachen können z.B. Traumata, Ischämien oder schwere Blutungen sein. SIRS wird definiert über die Kriterien der Temperatur, der Herzfrequenz, der Atemfrequenz und der Leukozytenzahl des Betroffenen. Wird zusätzlich eine Infektion mikrobiell nachgewiesen oder ist klinisch sehr wahrscheinlich, spricht man von einer Sepsis. Eine Sepsis kann in eine schwere Sepsis übergehen, die durch eine Organdysfunktion gekennzeichnet ist. Ein septischer Schock liegt vor, wenn bei Sepsis trotz entsprechender Volumentherapie eine Hypotension besteht und/oder die Gabe vasoaktiver Substanzen benötigt wird. Initial besteht meist zuerst eine proinflammatorische Situation mit Ausschüttung von Zytokinen wie Il- 1, Il- 6, Il- 8 und TNFα und Aktivierung von Immunzellen. Im weiteren Verlauf kann es durch neuroendokrine und immunologische Gegenreaktionen zu einer antiinflammatorischen Lage mit Immunparalyse kommen. Diese beiden Extremsituationen von Hyper- und Hyporeaktivität des Immunsystems können im weiteren Verlauf jederzeit und schnell ineinander übergehen und die Immunlage damit komplett verändern. Dies

bedeutet, dass für jeden Patienten eine individuelles Krankheitsmuster entsteht, das die Behandlung der Sepsis so schwierig macht [42,74,55,2].

1.4.5. Polytrauma

Trauma- Geschehnisse sind in der westlichen Welt eine der Haupttodesursachen von Personen unter 50 Jahren. Unter einem Polytrauma versteht man eine gleichzeitige Verletzung mehrerer Körperregionen, bei der mindestens eine oder die Kombination mehrerer Schädigungen zusammen lebensbedrohlich sind. Nach dem sogenannten „danger model“ von Matzinger werden entweder von gesunden Zellen oder von nekrotischen Zellen nach dem Trauma- Geschehen Alarmsignale ausgesendet, die lokalisierte Inflammationsreaktionen auslösen. Je nach Art des geschädigten Gewebes, sowie nach Art der Alarmsignale entstehen unterschiedliche Formen der Immunantwort, angepasst an das Verletzungsmuster. Vor allem die PMN und die Makrophagen sind entscheidend an der Verletzungskontrolle und der Immunreaktion initial beteiligt. Sie werden durch Zytokine, Chemokine und das Komplementsystem aktiviert. Im Blut Polytraumatisierter finden sich posttraumatisch sofort erhöhte Konzentrationen von Priming- Substanzen wie beispielsweise GM- CSF, die durch eine Voraktivierung der PMN zu einer verbesserten und verstärkten Immunantwort bei vollständiger Aktivierung führen. Eine Weiterentwicklung der lokalisierten Entzündungsformen in eine systemische Inflammationsreaktion (SIRS) ist wahrscheinlich. Ungefähr 5% der Polytraumatisierten entwickeln im folgenden Verlauf ein Multiorgandysfunktionssyndrom (MODS) das schließlich in einem Multiorganversagen (MOV) endet. Nach anfänglicher proinflammatorischer Reaktion des Körpers wird später eine antiinflammatorische Immunreaktion initiiert, die zu einer Immunsuppression bzw. zu einer Immunparalyse führen kann, die es dem Körper unmöglich macht auf nachfolgende neue Gefahren wie zum Beispiel Infektionen adäquat zu reagieren. Auch diese Situationen können zu einem späten MOV führen [74,32,37].

1.5. Fragestellung

Die gemeinsame Basis oben genannter Erkrankungen ist die eines inadäquat funktionierenden Immunsystems. Mithilfe der ausgewählten CD- Marker und durch die Untersuchung der PMN- Zellreihe sollen in dieser Arbeit weitere Erkenntnisse über die immunologischen Erscheinungsbilder dieser Krankheiten gewonnen werden. Hierzu sollen folgende Fragestellungen beantwortet werden:

1. Wie gestaltet sich das Expressionsmuster der Oberflächenmarker innerhalb einer Krankheitsgruppe?
   Kann in diesem Zusammenhang ein charakteristisches CD- Marker- Profil für eine Krankheitsgruppe erstellt werden?

2. Worin unterscheiden sich die diversen Immunsituationen der hier untersuchten Erkrankungen in einem Gesamtgruppenvergleich?

3. Welche Tendenzen ergeben sich bei der allgemeinen Betrachtung der Polytrauma-Verläufe? Und welche Unterschiede oder Gemeinsamkeiten lassen sich zwischen den einzelnen Polytraumatisierten untereinander finden?

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Innerhalb eines Zeitraums von sechs Monaten wurden Blutproben von Patienten, die an einer der obengenannten Krankheiten litten, typisiert und in die Zelluntersuchungen miteingeschlossen.

Unterschiede in den Fallzahlen der einzelnen Gruppen ergaben sich dadurch, dass sich in dieser Zeit bestimmte Erkrankungen häufiger in der Klinik zeigten als andere.

Neben den insgesamt fünf Patientengruppen wurden zusätzlich auch gesunde Freiwillige rekrutiert.

Normalspender

Um einen besseren Vergleich zu den diversen pathologischen Ausprägungen in den Patientengruppen zu ermöglichen, typisierten wir zusätzlich insgesamt dreizehn gesunde Personen. Diese Personen waren alle in einem Alter zwischen 15 und 25 Jahren zum Zeitpunkt der Messung. Die Auswahl an besonders jungen Patienten für unseren gesunden Vergleich erschien sinnvoll, um die im Laufe eines alternden Lebens immer wahrscheinlicher werdende Multimorbidität als Störgröße zu umgehen.

Die Gruppe lässt sich in zwei Untergruppen aufteilen. Subgruppe 1 entspricht einem Kollektiv aus fünf Personen, vier weibliche und eine männliche, die zum Zeitpunkt der Messung zwischen 22 und 25 Jahre alt waren. Subgruppe 2 ist eine acht- Köpfige Rudermannschaft im Alter zwischen 15 und 18 Jahren, die als Leistungssportler klassifiziert werden können. Darunter befinden sich drei weibliche und fünf männliche Probanden. Im Folgenden wird Subgruppe 1 als Gruppe der sogenannten „Nicht- Sportler“ angeführt werden, während Angehörige der Subgruppe 2 als „Sportler“ bezeichnet werden. Das einzige Auswahlkriterium für die Aufnahme in die Kontrollgruppe war die zum Zeitpunkt der Messung bestehende gesunde körperliche Verfassung der Probanden. Ebenso wie in den Krankheitsgruppen wurden weder Alter, Geschlecht, noch die sportliche Betätigung der Personen berücksichtigt. Die Nicht- Sportler, aber auch die Sportler konnten bei Probengewinnung als ‚gesund‘ betrachtet werden und werden dementsprechend als eine Gruppe zusammengefasst und behandelt. Die Auftrennung der beiden Subgruppen dient dazu, in speziellen Fällen (z.B. im Vergleich mit den OTS-Patienten) auf eventuelle Tendenzen eingehen zu können.

Tabelle1: Auflistung der gesunden Vergleichsgruppe, m= männlich; w= weiblich

Patientennr.	*Geschlecht*	*Alter*	
332	*w*	*24*	*Gesund; Nicht- Sportler*
342	*m*	*25*	*Gesund; Nicht- Sportler*
347	*w*	*22*	*Gesund; Nicht- Sportler*
414	*w*	*22*	*Gesund; Nicht- Sportler*
415	*w*	*22*	*Gesund; Nicht- Sportler*
540	*m*	*15*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
541	*w*	*17*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
542	*w*	*18*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
543	*m*	*16*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
544	*w*	*17*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
545	*m*	*15*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
546	*m*	*18*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*
547	*m*	*18*	*Gesund; Sportler (Rudermannschaft)*

HLH- Gruppe

Es wurden sechzehn Patienten, die eine HLH haben oder bei denen eine HLH im Verdacht steht, als eine Gruppe zusammengefasst und untersucht. Davon sind sieben weiblich und neun männlich. Zum Zeitpunkt der Messungen waren die Patienten zwischen 0 und 82 Jahre alt. Davon waren dreizehn unter 20 Jahre alt und lediglich drei Personen über 50 Jahre.

Eine sinnvolle Unterteilung der HLH- Gruppe ist diejenige nach Therapiestatus der Patienten. So ergeben sich drei Subgruppen von Patienten, die entweder noch nicht behandelt wurden (siehe Tabelle2: *Keine Therapie*), die bereits eine oder mehrere Therapien erhalten haben (siehe Tabelle2: *Therapie*) oder bei denen ein unbekannter Therapiestatus besteht. (siehe Tabelle2: *Unbekannt*)

Tabelle2: Auflistung der HLH- Patientengruppe, m= männlich; w= weiblich, HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose

Patientennr.	*Geschlecht*	*Alter*	*Therapiestatus*
162	*w*	*59*	*Unbekannt*
330	*w*	*5*	*Unbekannt*
337	*m*	*0*	*Therapie*
407	*m*	*3*	*Unbekannt*
359	*m*	*0*	*Therapie*
417	*w*	*6*	*Therapie*
465	*w*	*14*	*Keine Therapie*
475	*m*	*7*	*Therapie*
485	*m*	*3*	*Therapie*

486	*m*	*9*	*Therapie*
487	*w*	*2*	*Unbekannt*
498	*m*	*82*	*Therapie*
526	*m*	*15*	*Therapie*
539	*w*	*3*	*Therapie*
466	*m*	*72*	*Therapie*
663	*w*	*16*	*Keine Therapie*

LCH- Gruppe

Zu dieser Gruppe zählen Personen, die unter einer LCH leiden oder bei denen der Verdacht einer LCH besteht. Die LCH- Gruppe setzt sich aus vierzehn Patienten zusammen. Darunter befinden sich neun weibliche und fünf männliche Personen im Alter zwischen 18 und 67 Jahren. Vergleichbar mit der HLH- Gruppe kann man auch hier drei Subgruppen nach Therapiegrad bestimmen (siehe Tabelle3: *Keine Therapie; Therapie; Unbekannt*).

Tabelle3: Auflistung der LCH- Patientengruppe, m= männlich; w= weiblich, LCH= Langerhanszellhistiozytose

Patientennr.	*Geschlecht*	*Alter*	*Therapiestatus*
323	*m*	*57*	*Unbekannt*
496	*w*	*22*	*Unbekannt*
549	*w*	*57*	*Unbekannt*
372	*w*	*67*	*Unbekannt*
165	*m*	*31*	*Therapie*
484	*w*	*31*	*Keine Therapie*
490	*w*	*43*	*Unbekannt*
536	*w*	*43*	*Therapie*
594	*m*	*35*	*Unbekannt*
586	*w*	*56*	*Keine Therapie*
164	*w*	*46*	*Unbekannt*
529	*m*	*36*	*Unbekannt*
599	*m*	*50*	*Unbekannt*
453	*w*	*18*	*Unbekannt*

OTS- Gruppe

In die OTS- Gruppe wurden neun Personen mit Verdacht auf ein Overtraining- Syndrom eingeschlossen. Alle Personen waren zu diesem Zeitpunkt zwischen 15 und 62 Jahren. Insgesamt wurden eine weibliche und acht männliche Personen typisiert.

Tabelle4: Auflistung der OTS- Patientengruppe, m= männlich; w= weiblich, OTS= Overtrainingsyndrom

Patientennr.	*Geschlecht*	*Alter*
160	*m*	*15*
241	*m*	*44*
285	*m*	*22*
286	*m*	*32*
308	*m*	*62*
334	*m*	*15*
532	*m*	*22*
534	*w*	*24*
659	*m*	*27*

Sepsis- Gruppe

Für die Sepsis- Gruppe wurden acht sich in einer Sepsis befindlichen Personen ausgewählt. Die septischen Patienten befanden sich zu damaliger Messung in einer Altersgruppe zwischen 30 und 73 Jahren. Fünf der Probanden sind weiblich, drei männlich.

Tabelle5: Auflistung der Sepsis- Patientengruppe, m= männlich; w= weiblich

Patientennr.	*Geschlecht*	*Alter*	*Schweregrad*
990	*m*	*68*	*Septischer Schock*
555	*m*	*47*	*Septischer Schock*
326	*w*	*63*	*Septischer Schock*
357	*m*	*44*	*Schwere Sepsis*
361	*w*	*30*	*Septischer Schock*
471	*w*	*50*	*Septischer Schock*
494	*w*	*45*	*Septischer Schock*
553	*w*	*73*	*Septischer Schock*

Polytrauma- Gruppe

Acht Personen, die kurz zuvor ein Polytrauma erlitten, wurden für die Gruppe der Polytrauma- Patienten im Verlauf typisiert. Es wurden pro Patient maximal sieben Zeitpunkte (0h, 4h, 12h, 24h, 48h, 120h und 240h) nach dem Polytrauma- Geschehen gemessen. Unter den acht Patienten befinden sich sieben männliche und eine weibliche Person. Vier davon waren zu damaliger Zeit zwischen 25 und 48 Jahre alt, vier davon zwischen 70 und 80 Jahren.

Tabelle6: Auflistung der Polytrauma- Patientengruppe, m= männlich; w= weiblich, SIRS= Systemic Inflammatory Response Syndrome

Patient	*Geschlecht*	*Alter*	*Gemessene Zeitpunkte*	*SIRS/ Septische Erkrankung*
**1*	*m*	*25*	*12h*	
			24h	*SIRS Schock*
			48h	*schweres SIRS*
			120h	
			240h	
**2*	*m*	*34*	*24h*	*SIRS*
			48h	*SIRS*
			120h	*SIRS*
			240h	
**3*	*m*	*45*	*0h*	
			12h	
			24h	*SIRS*
			48h	*schweres SIRS*
			120h	*schweres SIRS*
			240h	*schweres SIRS*
**4*	*m*	*70*	*0h*	
			4h	
			12h	
			24h	*SIRS*
			48h	*Sepsis*
			120h	*Sepsis*
**5*	*w*	*73*	*12h*	
			24h	*SIRS Schock*
			48h	*SIRS Schock*
			120h	*SIRS Schock*
			240h	*septischer Schock*
**6*	*m*	*48*	*0h*	
			4h	
			12h	
			24h	*schweres SIRS*
			48h	*SIRS*
			120h	-
			240h	-
**7*	*m*	*80*	*4h*	
			12h	
			24h	*schweres SIRS*
			120h	*SIRS Schock*
			240h	*septischer Schock*
**8*	*m*	*76*	*0h*	
			4h	
			12h	
			24h	*SIRS Schock*
			48h	*schweres SIRS*
			120h	*septischer Schock*

2.2. Materialien

Für die Untersuchung des Patientenblutes wurde Folgendes verwendet:

- FALCON- Röhrchen (Firma BD Biosciences)

- Pipetten 200µl, 100µl , 50µl, 3µl

- Antikörper (siehe folgende Tabelle7):

Tabelle7: verwendete CD- Marker; FITC= Fluoresceinisothiocyanat; PE= Phycoerythrin; CD= Cluster of Differentiation; HLA= Human Leukocyte Antigen; TLR= Toll- like- Rezeptor; Il= Interleukin

Röhrchen-Nr.	*Oberflächenmarker*	*Firma/ Anbieter*
1	*CD 16/FITC*	*DIACLONE research*
2	*CD 39 (1:10/FITC)*	*Serotech*
3	*CD 95/PE*	*BD*
4	*Anti- HLA- DR/FITC*	*BD*
5	*CD 282 (= TLR- 2)/FITC*	*eBioscience*
6	*CD 284 (= TLR- 4)/PE*	*Serotech*
7	*Il- 17RA/FITC*	*R & D Systems*
8	*CD 88/PE*	*BD*
9	*CD 64/FITC*	*Beckman Coulter*
10	*CD 66b/FITC*	*BD*
11	*CD 11b/PE*	*BD*
12	*CD 33/PE*	*Dako*

- Vortex Genie 2 (Scientific Industries)

- FACS Lysing Solution (1:10, Firma BD Biosciences)

- GS- 6R Centrifuge (Beckman Coulter)

- isotonische Phosphat- gepufferte Salzlösung: PBS (Firma GIBCO/ Invitrogen)

- CellFIX (1:10 mit destilliertem Wasser, Firma BD Biosciences)

- FACS- Calibur (Firma BD Biosciences)

- Software: Cellquest pro®

- Software: GraphPad Prism Version 5.00 (Firma GraphPad Software Inc.)

- Software: Makro erstellt von Christian Schmidt, Statistiker, zur speziellen

Auswertung der oben angeführten CD- Marker- Tabelle

2.3. Typisierungsverfahren

Vorbereitung

Das zu untersuchende Blut der HLH- und der LCH- Patienten wurde von externen Kliniken ins Labor eingeschickt, während alle anderen Blutentnahmen von der Universitätsklinik Ulm geliefert wurden. Der gesunde Vergleich wurde von Freiwilligen im Labor selbst abgenommen. Die Blutproben wurden zur Aufbewahrung im Kühlschrank gelagert und nach kürzester Zeit typisiert.

Arbeitsablauf

Zur Typisierung wurde jede Blutprobe wie folgt verarbeitet:

Zunächst wurden in insgesamt 25 FALCON- Röhrchen jeweils 70 µl des Patientenblutes pipettiert. Dann wurden in jedes Röhrchen zwei monoklonale Antikörper (jeweils 3 µl) hinzugefügt. Ein mit FITC- markierter monoklonaler Antikörper wurde dabei stets mit einem PE- markierten monoklonalen Antikörper kombiniert, da sich durch die Verwendung von zwei Farbstoffen mit unterschiedlichen Absorptions- und Emissionsspektren die Möglichkeit ergibt, zwei Antikörper gleichzeitig anzuwenden. Nach Mischung mittels des Vortex Genie 2- Gerätes wurden die Proben lichtundurchlässig abgedeckt und für 25 min. inkubiert. Während der gesamten Zeit von Versuchsbeginn an wurden die Röhrchen auf Eis gestellt. Nach der Inkubationszeit erfolgte die Zugabe von 2 ml FACS Lysing Solution (1:10) zu jedem Röhrchen, um die Erythrozyten während einer nachfolgenden Ruhezeit von 10 min zu lysieren. Nach dieser Zeit sollte die Zellsuspension klar sein. War dies der Fall, wurden die Proben mit dem Gerät GS- 6R Centrifuge bei 980 RPM für 5 min. zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, der Rest mit 2 ml PBS resuspendiert und erneut für 5 min. bei 980 RPM zentrifugiert. Dann wurde dieser Vorgang des Waschens mit PBS auf gleiche Weise wiederholt. Zum Abschluss wurde zu den Proben 50 µl CellFIX (1:10) hinzugegeben, um die darin enthaltenen Zellen nach der erfolgten Antikörper- Markierung zu fixieren. Unter ständiger Kühlung wurden die Proben bis zur Messung mit dem FACS- Gerät eingelagert.

Messung mit dem FACS- Gerät

FACS ist die Abkürzung für Fluorescence Activated Cell Sorting und wird im Deutschen als Synonym für den Begriff Durchflusszytometrie verwendet. Das Prinzip der Untersuchung mittels eines FACS- Gerätes beruht darauf, dass fluoreszierende Antikörper sich mit den Zellen verbinden, die auf ihrer Oberfläche ein zu ihnen passendes Antigen haben. Durch den angebundenen, farbstoffhaltigen Teil wird dann die Zelle durch Laserstrahlen detektiert. Auf diese Weise ergibt sich ein sehr schnelles Analyseverfahren für Zellen und deren Oberflächenantigen- Verteilung.

Für die Messungen des vorbereiteten Patientenblutes wurde ein FACS- Calibur der Firma BD Biosciences eingesetzt. Das Gerät ist mit zwei Lasern ausgestattet, einem blauen Argonlaser (488nm) und einem roten Diodenlaser (635nm). Die Zellsuspension wurde aufgezogen und durch eine Flusskammer wurde jede einzelne Zelle in einem Flüssigkeitsfilm an den Laserstrahlen vorbeigeführt. Farbstoff- markierte Zellen wurden detektiert. Neben dem emittierten Fluoreszenzlicht der Antikörper- gekoppelten Farbstoffe, wurde auch die Lichtstreuung zur Zelltyp- Erkennung ermittelt.

Durch das Auftreffen der Laserstrahlen auf die Zelle im 90°- Winkel, ergab sich eine Streuung des Lichts, die mittels einer Sammellinse gebündelt wurde und zu Detektoren und Multipliern geleitet wurde. Durch das Vorwärtsstreulicht (FSC) wurde die Größe der einzelnen Zellen erfasst, mit dem Seitwärtsstreulicht (SSC) wurde die Granularität festgestellt. Auf diese Weise konnten die PMN als größte und Granula- reichste Zellen deutlich von anderen Zellpopulationen abgegrenzt werden.

Pro Röhrchen wurden, wenn es aufgrund der Blutprobe möglich war, 10000 Zellen analysiert.

Auswertung und Darstellung

Für die Auswertung wurde das Cellquest pro® - Programm verwendet. Nach der Typisierung wurde für jeden Marker und jede Zellpopulation ein Histogramm (ein sog. Dot Plot) erstellt, in das sämtliche Zellen mit positivem Signal (auf die Fluoreszenz- Detektion einer der beiden Farbstoffe) eingetragen wurden.

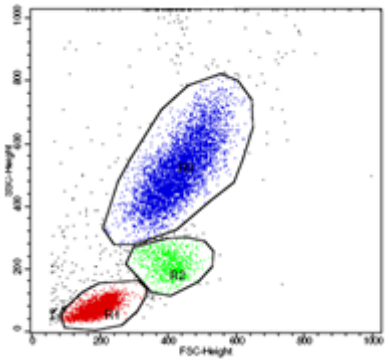

Abbildung2: Beispiel eines Dot- Plot mit 3 markierten Zellpopulationen. (hier: Patientennr. 347, Röhrchennr. 1 verwendet). R1(rot)= Lymphozyten- Gate, R2(grün)= Monozyten-Gate, R3(blau)= PMN- Gate. y- Achse: SSC= Sideward- Scatter (Granularität), x- Achse: FSC= Forward- Scatter (Zellgröße). PMN= polymorphkernige neutrophile Granulozyten.

Durch das Setzen von ‚Gates' (= Schleusen) wurde die Zellpopulation der PMN von anderen Zellpopulationen genau abgetrennt und in einem einzelnen Dot Plot dargestellt. Dieser Vorgang wurde für jeden Marker wiederholt, sodass sich als Ergebnis schließlich jeder Marker der PMN einzeln betrachten ließ.

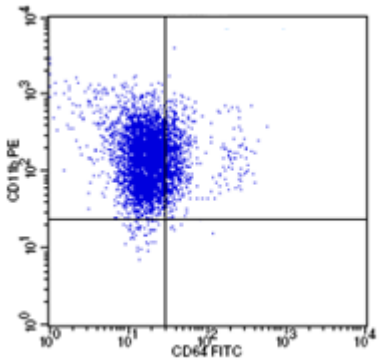

Abbildung3: Beispiel eines Dot- Plot nur für PMN (hier: Patientennr. 347, Röhrchennr. 22 verwendet). Ein blauer Punkt entspricht einem PMN. y- Achse: CD11b- Antikörper (PE- markiert), x- Achse: CD64- Antikörper (FITC- markiert). PMN= polymorphkernige neutrophile Granulozyten; PE= Phycoerythrin; FITC= Fluoresceinisothiocyanat; CD= Cluster of Differentiation.

Die Messergebnisse wurden im Folgenden durch ein speziell dafür entwickeltes Makro (Christian Schmidt, Labor Frau. Prof. Dr. Marion Schneider, Universitätsklinik Ulm, 2010/2011) verarbeitet und dargestellt. Anschließend konnten sie in das Programm GraphPad Prism Version 5.00 (Firma GraphPad Software Inc.) übertragen werden und im Ergebnissteil in verschiedenen Abbildungen veranschaulicht werden.

2.4. Scores

SIRS/ Sepsis- Score

Für die Einteilung in die Schweregrade von SIRS und Sepsis wurde ein Scoring- System von 0 bis 8 gewählt. Die Zahl 0 bedeutet, dass keine Infektion und generalisierte Entzündungsreaktion vorliegt. Ein Scorewert von 1 beinhaltet Patienten mit einer Infektion ohne generalisierte Entzündungsreaktion. Bei 2 Punkten besteht eine Bakteriämie, bei 4 eine Sepsis, bei 6 eine schwere Sepsis und bei 8 ein septischer Schock. Für die Punktzahlen 3, 5 und 7 werden ein SIRS (3), ein schweres SIRS (5) beziehungsweise ein SIRS Schock (7) angenommen. Es gelten die in Abbildung 4 genannten Kriterien [74,2].

SIRS (mindestens 2 der untengenannten Punkte müssen zutreffen)
• Hypo- (<36°C) oder Hyperthermie (>38°C)
• Tachykardie (>90/min)
• Tachypnoe (>20/min) und/oder arterieller pCO2 <4,3kPa (33mmHg) und/oder maschinelle Beatmung
• Leukozytose >12.000/µl oder Leukopenie <4.000/µl und/oder Linksverschiebung >10% im Differenzialblutbild
Sepsis
• SIRS plus mikrobiologisch oder klinisch nachgewiesene Infektion
Schwere Sepsis
• Sepsis plus Zeichen einer Organdysfunktion (akute Enzephalopathie; Thrombozytopenie; arterielle Hypoxämie; arterielle Hypotension; renale Dysfunktion; metabolische Azidose)
Septischer Schock
• Sepsis mit Kreislaufversagen (systolischer Blutdruck <90mmHg oder mittlerer arterieller Blutdruck <70mmHg für mind. 2 Stunden bzw. Einsatz von Vasopressoren (Dopamin >5µg/kg/min bzw. Noradrenalin, Adrenalin, Phenylephrin oder Vasopressin in jeder Dosierung) erforderlich, um den systolischen Blutdruck >90mmHg oder den arteriellen Mitteldruck >70mmHg zu halten)

Abbildung4: Kriterien zur Diagnose septischer Erkrankungen, SIRS= Systemic Inflammatory Response Syndrome

ISS

Zur Schweregraderfassung eines Polytraumas kam der ISS (Injury Severity Score) zum Einsatz. Bei der Beurteilung durch den ISS werden sechs Körperregionen nach der Schwere der Verletzung in diesem Bereich mit Punkten von 1- 6 bewertet und verrechnet. Die ermittelte Score- Zahl ist umso höher, je schwerer der Patient verletzt ist [40].

SOFA

Für die Abschätzung des Status und die Prognose von Intensivpatienten wurden diverse Scoring- Systeme entwickelt. Ein Beispiel ist „SOFA“. Es steht für Sequential Organ Failure Assessment und ist ein System zur Abschätzung der Morbidität von Patienten auf der Intensivstation. Entwickelt wurde es zur Beurteilung von septischen Patienten, wurde dann aber auch auf nicht- septische Patienten übertragen. Es werden darin sechs Organsysteme bezüglich ihrer (Dys-) Funktion bewertet und dementsprechend Punkte vergeben. Je höher die Punktzahl, desto schlechter die Organfunktion und damit der Zustand des Patienten [50,83].

SAPS

Ein weiteres System ist SAPS. Dieses Akronym steht für Simplified Acute Physiology Score und wird als Maß des Schweregrades der Erkrankung und für die Abschätzung des Mortalitätsrisikos eines Schwerkranken auf der Intensivstation eingesetzt. Mehrere Variablen werden dabei miteinbezogen. Nicht nur Parameter, die die Körperfunktionen betreffen (wie zum Beispiel Herzfrequenz, Blutdruck etc.), sondern auch Variablen wie vorherbestehende chronische Erkrankungen werden berücksichtigt [41,49,54]. Ebenso wie im SOFA- Score steht auch hier ein hoher Wert für eine ungünstige Prognose.

2.5. Statistik

Als statistisches Verfahren wurde im ersten Teil der Ergebnisauswertung der Mann-Whitney- U- Test angewandt, im zweiten Teil wurde der Kruskal- Wallis- Test verwendet, der eine Art Erweiterung des Mann- Whitney- Tests darstellt. Beide Analyseformen sollen im Folgenden näher erläutert werden.

Mann- Whitney- U- Test

Dies ist ein Verfahren, das zur Überprüfung der zentralen Tendenz zweier unabhängiger Stichproben eingesetzt wird. Es soll herausgefunden werden, ob ein signifikanter Unterschied zwischen diesen besteht. Da es sich um einen Rangsummentest handelt, ist er auch für geringere Fallzahlen einsetzbar, ohne, dass einzelne zu hohe oder zu niedrige Werte, die Testergebnisse verfälschen könnten. Als ein nichtparametrischer Test (auch ‚verteilungsfreier' Test genannt d.h. er ist unabhängig von der Verteilung der Stichprobenvariablen) gibt es keine Grundvoraussetzung, die besagt, dass eine Normalverteilung bestehen muss, was in den spezifischen Patientengruppen dieser Arbeit nicht möglich wäre. Für alle Werte der beiden Stichproben werden unabhängig davon zu welcher Probengruppe sie gehören Ränge vergeben, sodass sich eine bestimmte Rangreihenfolge ergibt. Der Grundgedanke dieses Tests ist, dass, wenn sich zwischen den Stichproben keine Unterschiede hinsichtlich ihrer zentralen Tendenz ergeben, sich eine gleichmäßige Rangreihenfolge ergeben muss.

Liegt der auf diese Weise errechnete U- Wert unterhalb des kritischen Wertes, kann von einem signifikanten Unterschied zwischen den beiden Stichproben ausgegangen werden.

Kruskal- Wallis- Test

Der Kruskal- Wallis- Test ist ein nichtparametrischer Test für die Überprüfung, ob sich unabhängige Stichproben signifikant voneinander unterscheiden. Dabei müssen mehr als zwei Stichproben miteinander verglichen werden. Auch hier wird über ein Rangsummentest- Verfahren eine Reihenfolge in alle gemessenen Werte der gesamten Stichproben gebracht und dann die Teststatistik H berechnet. Die Teststatistik H überprüft die Gleichmäßigkeit der Verteilungen in der Rangreihe. Es handelt sich bei diesem Test folglich um eine Art der Erweiterung des Mann- Whitney- U- Tests. Der Unterschied der Testverfahren besteht lediglich in der Anzahl der gleichzeitig miteinander verglichenen Stichproben. Eine Testvoraussetzung ist, dass bei einem Vergleich von vier oder mehr Stichproben, wie in diesem Fall, mindestens vier Messwerte pro Vergleichsgruppe vorliegen müssen. Wenn die Voraussetzung einer ausreichenden Stichprobengröße erfüllt wurden, kann der H- Wert berechnet werden.

Dunn’s Post Test

Sollte das Ergebnis für einen signifikanten Unterschied sprechen, kann ein multiples Vergleichsverfahren Aufschluss darüber geben, zwischen welchen Stichproben dieser Unterschied besteht, da durch den H- Test allein keine Auskunft darüber gegeben wird, welche Gruppen sich von den anderen unterscheiden oder ob sich beispielsweise sogar alle signifikant unterscheiden.

Dazu wird der sogenannte Dunn’s Post Test durchgeführt. Das Prinzip dieses Tests beruht darauf, dass zunächst die Differenzen zwischen den mittleren Rängen der Gruppen berechnet werden. Dann werden die berechneten Differenzen mit den anzunehmenden Durchschnittsdifferenzen verglichen.

Bei allen oben genannten statistischen Testverfahren wurde in dieser Arbeit ein Signifikanzniveau von 5% (p= 0,05) gewählt.

2.6. Software

Die verwendete Software für die Mann- Whitney- U- Analyse, den Kruskall- Wallis- Test, sowie den darauffolgenden Dunn’s Post Test ist die GraphPad Prism Version 5.00 (GraphPad Software Inc. San Diego, California). Alle im Ergebnisteil aufgeführten Abbildungen sind ebenfalls mit Hilfe dieses Programmes erstellt worden.

3. Ergebnisse

Im ersten Abschnitt des Ergebnisteils wird dargestellt, wie sich das Expressionsmuster der Oberflächenmarker innerhalb einer Gruppe gestaltet. Es wird auf die Frage eingegangen, inwieweit für eine bestimmte Erkrankung ein charakteristisches CD- Marker- Profil erstellt werden kann. Hierzu wird als vergleichende Komponente das gesunde Probandenkollektiv verwendet. Anhand des Mann- Whitney- U- Tests wird überprüft, ob ein signifikanter Unterschied zwischen „gesund“ und „krank“ (der jeweiligen Patientengruppe) besteht. (siehe im folgenden Teil 3.1.)

Ähneln sich Erkrankungen im Ausprägungsgrad ihrer CD- Marker? Eine Gegenüberstellung aller Patientenkollektive soll dazu dienen, Unterschiede zwischen den diversen Immunsituationen der hier untersuchten Erkrankungen zu erkennen. Für diesen Gesamtgruppenvergleich wird der Kruskal- Wallis- Test durchgeführt. Ein anschließender Dunn’ s Post Test soll entdeckte signifikante Unterschiede weiter verfolgen und näher analysieren. Da für den Vergleich der Polytrauma- Patienten mehrere Messzeitpunkte zur Verfügung stehen, die Kruskal- Wallis- Analyse aber nur für unabhängige Stichproben ausgelegt ist, wird ein Messzeitpunkt gewählt und in die Statistik miteinbezogen. Das ist hier der Zeitpunkt t= 24h. (siehe im folgenden Teil 3.2.)

Anschließend werden die Verläufe der Polytraumatisierten betrachtet. Dazu werden Auffälligkeiten in der posttraumatischen CD- Marker- Entwicklung der einzelnen Patienten beschrieben und miteinander verglichen. (siehe im folgenden Teil 3.3.)

3.1. Ergebnismuster der einzelnen Patientengruppen und Vergleich mit dem gesunden Probandenkollektiv

3.1.1. CD- Marker Profil der gesunden Vergleichsgruppe

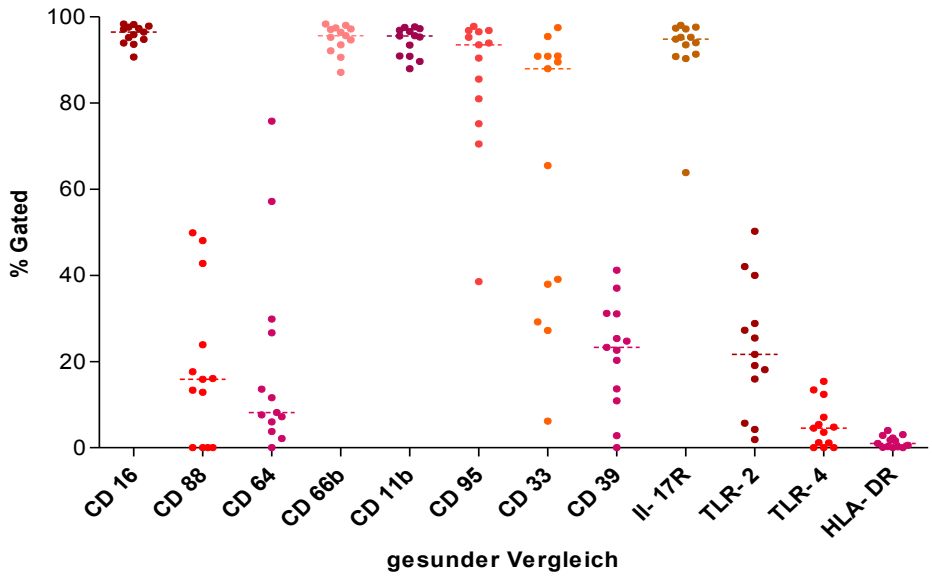

Abbildung5: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der gesunden Vergleichsgruppe; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit ---- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin, TLR= Toll- like- Rezeptor, HLA= Human Leukocyte Antigen

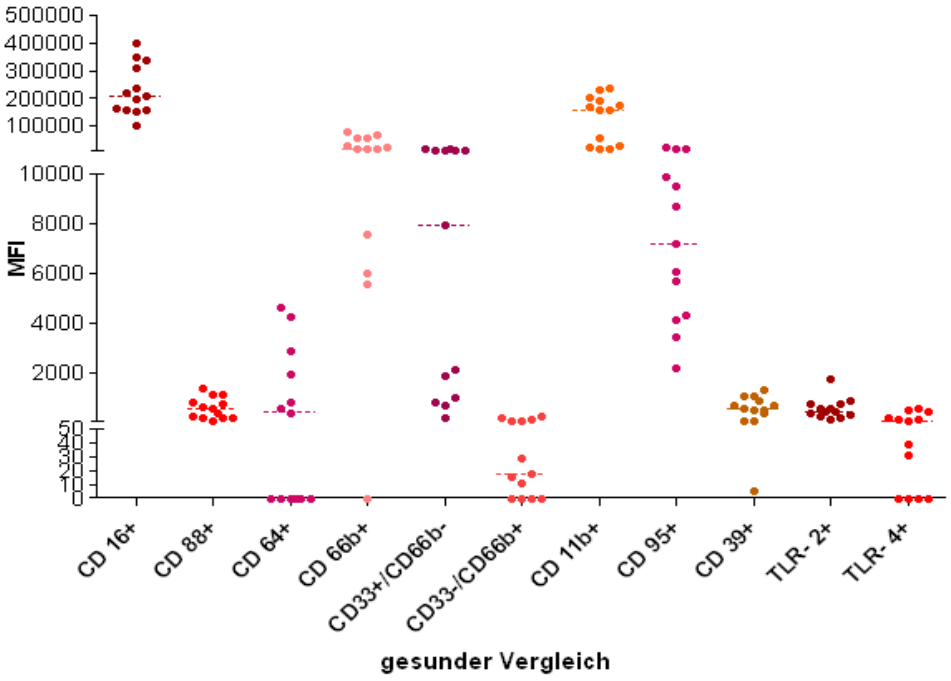

Abbildung6: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der gesunden Vergleichsgruppe; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit ---- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Im ersten angeführten Diagramm werden die %Gated- Werte der gesunden Probanden aufgeführt. Das zweite, darunterliegende Diagramm zeigt zusätzlich berechnete MFI-Werte auf.

Im Überblick ist zu erkennen, dass es Bereiche gibt, in denen sich die gesunde Population sammelt. Es ist sichtbar, dass es für fast jeden Marker eine Populationswolke (bzw. einen Wertebereich) gibt, um die sich vereinzelt weitere Werte streuen. Es ist also ein bestimmtes CD- Marker- Profil aller gesunden Vergleichsprobanden zu erkennen.

Dieses wird im Folgenden den diversen kranken Patientenkollektiven gegenübergestellt.

3.1.2. CD- Marker Profil der HLH- Patienten

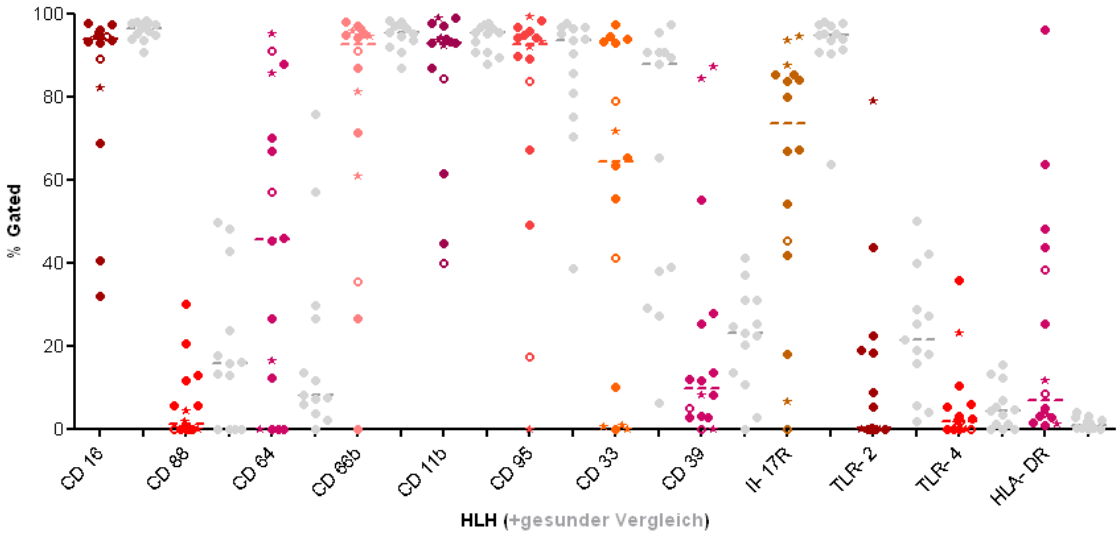

Abbildung7: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der HLH- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen HLH- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; ● = Patienten unter Therapie, ★ = Patienten mit unbekanntem Therapiestatus, ○ = Patienten ohne Therapie, --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin, TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose

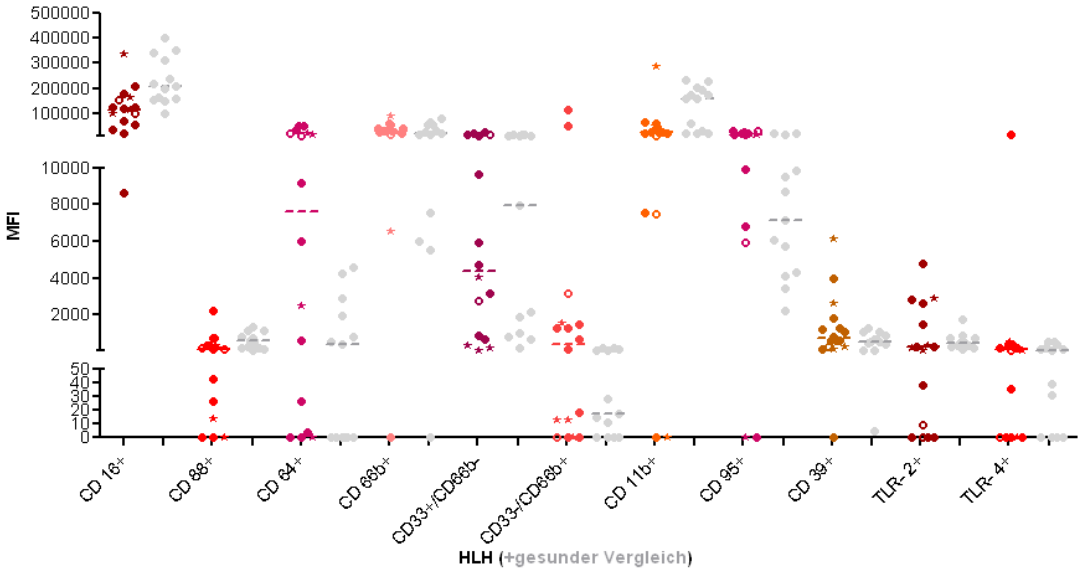

Abbildung8: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der HLH- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen HLH- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; ● = Patienten unter Therapie, ★ = Patienten mit unbekanntem Therapiestatus, ○ = Patienten ohne Therapie, --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose

Vergleiche der HLH-Patienten mit den Gesunden anhand der Berechnungen des Mann-Whitney- U-Tests

%Gated- Werte:

Tabelle8: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der HLH- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose

gesunder Vergleich vs. HLH	*CD 16*	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il-17R*	*TLR-2*	*TLR-4*	*HLA-DR*
p- Wert	*0,012*	*0,073*	*0,135*	*0,044*	*0,313*	*0,792*	*0,569*	*0,236*	*0,000*	*0,014*	*0,400*	*0,001*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*ja*
Wenn ja, wie signifikant?	*			*					***	*		**
U- Wert	*47*	*64*	*70*	*58*	*81*	*98*	*91*	*77*	*19*	*48*	*85*	*25*

MFI- Werte:

Tabelle9: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der HLH- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Gesunder Vergleich vs. HLH	*CD 16+*	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,002*	*0,037*	*0,022*	*0,313*	*0,844*	*0,126*	*0,010*	*0,041*	*0,264*	*0,211*	*0,672*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*ja*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?	**	*	*				*	*			
U- Wert	*33*	*56*	*52*	*80*	*99*	*69*	*45*	*57*	*78*	*75*	*94*

Auf den ersten Blick erscheint das Profil der HLH- Patienten sehr inhomogen. Im Vergleich zur gesunden Probandengruppe sind zwar auch hier Ergebniswolken sichtbar, diese sind jedoch nur sehr grob gefasst und eine große Zahl an Ausreißern umgibt diese Wolken.

Wie aus den beiden oben abgebildeten Tabellen ersichtlich, ergeben sich insgesamt zehn signifikante Unterschiede zwischen den gesunden Probanden und den HLH- Patienten hinsichtlich ihrer CD- Marker- Ausprägungen.

Die Prozentwerte des Markers CD 16 liegen mit zwei Ausnahmen stets unterhalb des Medianwerts des gesunden Vergleichs. Fünf der Werte liegen sogar außerhalb der Grenzen des Wertbereichs der Gesunden. Die HLH- Patienten weisen also eher geringere Werte für CD 16 auf. Dies kann im Mann- Whitney- U- Test mit einem signifkanten p- Wert= 0,012 und einem U- Wert von 47 unterstrichen werden.

Die MFI- Werte für CD 16+ liegen innerhalb oder unterhalb des Wertebereichs, in dem sich die Gesunden befinden. In der Übersicht des Diagramms scheint das HLH- Kollektiv gegenüber dem gesunden Kollektiv nach unten verrutscht zu sein. Hier ist der statistische Test sogar als hoch signifikant auszuwerten (p= 0,002 und U= 33).

Die MFI- Ergebnisse für CD 88+ weisen eine höhere Streubreite auf als bei den Gesunden. Es ergibt sich mit p= 0,037 ein signifikanter Unterschied zu den Gesunden.

Auch für die MFI- CD 64+- Expression zeigt sich ein bedeutsamer Unterschied (p= 0,022), da einige der HLH- Patienten in sehr viel höheren Wertebereichen zu finden sind als das gesunde Kollektiv.

Für %Gated- CD 66b ist eine Populationswolke ersichtlich, die sich im selben Wertebereich befindet wie die des gesunden Vergleichs. Es finden sich aber auch sechs Werte, die deutlich niedrigere Werte haben und unterhalb dieser Wolke verstreut vorliegen. Bei der Berechung zeigt sich ein relevanter Unterschied mit p= 0,044 und U= 58.

Ausgenommen eines Ausreißers oberhalb und vier Ausreißern unterhalb davon, liegen die HLH- Patienten mit ihren MFI- Ergebnissen für CD 11b+ ungefähr im Bereich der unteren Populationswolke des gesunden Vergleichs. Eine weitere Ansammlung wie bei den

Gesunden im höheren Wertebereich ist nicht erkennbar. Mit p= 0,010 ist der Unterschied zu den Gesunden signifikant.

Die MFI- Ergebnisse für CD 95+ zeigen eine Populationswolke, in der sich insgesamt elf der sechzehn HLH- Patienten befinden. Der gesunde Vergleich kann dagegen nur in einem weitgefassten Bereich begrenzt werden und zeigt keine Ergebniswolke. Im Mann-Whitney- U- Test ist p= 0,041 und damit signifikant.

Für %Gated- Il- 17R ergibt sich eine der größten Besonderheiten bei den HLH- Patienten: Während bei dem gesunden Probandenkollektiv die Il- 17 R- Werte hauptsächlich in einer engbegrenzten Populationswolke zu finden sind, ist deutlich sichtbar, dass die HLH-Patienten in ihren Il- 17R- Werten stark variieren und im gesamten Wertebereich verteilt liegen. Zu bemerken ist außerdem, dass bis auf zwei Werte der HLH- Patienten und ein Ausreißer der Gesunden keine weiteren Überschneidungen der Wertebereiche der Vergleichsgruppen vorliegen und die HLH- Patienten damit eher niedrigere Werte aufweisen als die gesunden Vergleichspersonen. Diese Auffälligkeiten bestätigen sich im statistischen Test mit einem höchst signifikanten Unterschied (mit p= 0,000 und U= 19).

Die Prozentwerte für TLR-2 scheinen auf den ersten Blick dem gesunden Vergleich ähnlich zu sein. Man erkennt ansatzweise eine Dreiteilung der Werte. Bei genauerer Betrachtung ist jedoch auffallend, dass neun der HLH- Patienten einen Wert= 0 aufweisen. Mit p= 0,014 und U= 48 sind die HLH- Patienten signifikant von den Gesunden zu unterscheiden.

Sehr auffällig sind die %Gated- Ergebnisse für HLA- DR. Die HLH- Patienten liegen mit über der Hälfte ihrer Werte deutlich außerhalb der Grenzen der Gesunden. Die Statistik zeigt mit p= 0,001 einen hoch signifikanten Unterschied.

Als Besonderheit wird im Folgenden kurz auf den Zusammenhang oben genannter signifikanter CD- Marker und den Therapiestatus eingegangen: Die beiden Patienten, die zum Zeitpunkt der Messung sicher nicht therapiert wurden, weisen teilweise besondere Ausprägungen auf und gehören oftmals zu den Ausreißern der HLH- Population.

Für %Gated- CD 66b gilt, dass sich die beiden Nichttherapierten unterhalb des Medianwertes der HLH- Patienten befinden und damit im groben Vergleich eher niedrige Prozentwerte haben.

Gleiches gilt für die Prozentwerte der Nichttherapierten bezüglich Il- 17R.

Auch die Ergebnisse für %Gated- TLR- 2 der Nichttherapierten liegen eher im unteren Bereich der Werte der HLH- Patienten, ebenso im Vergleich mit den Gesunden.

Die %Gated- HLA- DR- Ausprägung der zwei Patienten hingegen ist sehr hoch und beide Werte liegen oberhalb des Medianwertes dieser Gruppe.

Für die MFI- Werte von CD 11b+ zeigt sich, dass sich beide Patienten, die sicher keine Therapie erhielten, eher im unteren Wertebereich der HLH- Patienten befinden.

Die Ergebniswolke für die MFI- Werte von CD 64+, die bei den Gesunden nicht vorzufinden ist, beinhaltet ebenfalls die beiden nicht therapierten HLH- Patienten. Damit zählen sie zu den besonders hohen MFI- Ergebnissen innerhalb der HLH- Gruppe.

Zusammenfassung

Tendenzen der HLH- Gruppe / „CD- Marker- Profil“ (gemäß Mann- Whitney- U- Test)

In folgender Tabelle werden die sich oben ergebenen Tendenzen (gemäß den Ergebnissen des statistischen Tests) zusammengefasst dargestellt.

Tabelle10: Darstellung des CD- Marker- Profils der HLH- Gruppe. Die gelb markierten Pfeile kennzeichnen diejenigen der Oberflächenmarker, die Unterschiede zu den gesunden Probanden aufweisen und damit also am ehesten zur Anfertigung eines charakteristischen Profils von CD- Markern bei HLH- Erkrankten verwendet werden könnten. ↓= signifikant niedrigere Ergebniswerte; ↑= signifikant höhere Ergebniswerte; →= keine signifikant unterschiedlichen Ergebniswerte; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose; MFI= Mean Fluorescence Intensity; Farben dienen zur verbesserten Übersichtlichkeit

	CD 16	CD 88	CD 64	CD 66b	CD 11b	CD 95	CD 33	CD 39	Il 17R	TLR-2	TLR-4	HLA-DR
% Gated	↓	→	→	↓	→	→	→	→	↓	↓	→	↑
	CD 16+	CD 88+	CD 64+	CD 66b+	CD 33+/ CD 66b-	CD 33-/ CD 66b+	CD 11b+	CD 95+	CD 39+	TLR-2+	TLR-4+	
MFI	↓	↓	↑	→	→	→	↓	↑	→	→	→	

3.1.3. CD- Marker Profil der LCH- Patienten

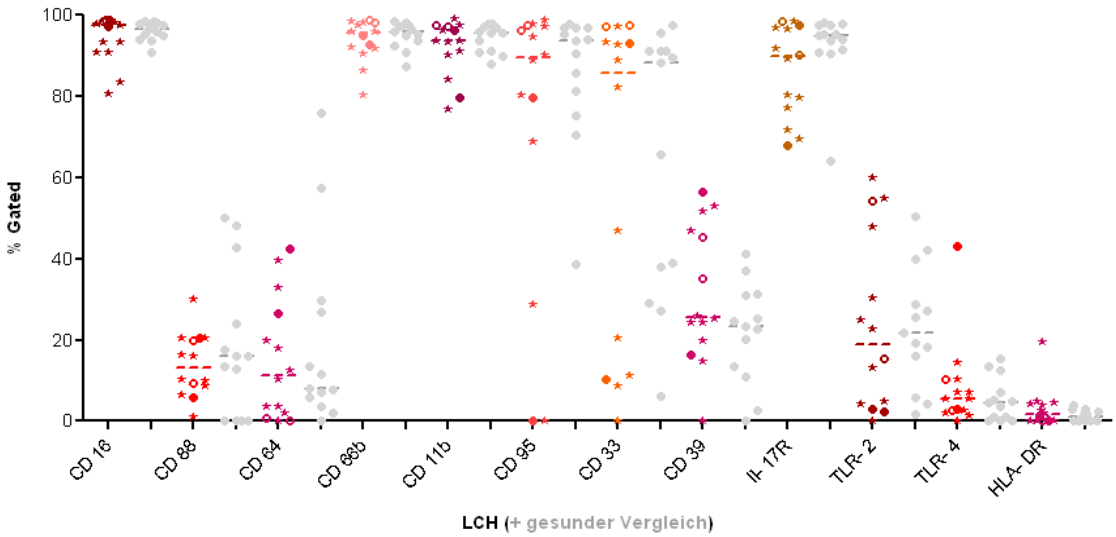

Abbildung9: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der LCH- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen LCH- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; ● = Patienten unter Therapie, ★ = Patienten mit unbekanntem Therapiestatus, ○ = Patienten ohne Therapie, --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin, TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; LCH= Langerhanszellhistiozytose

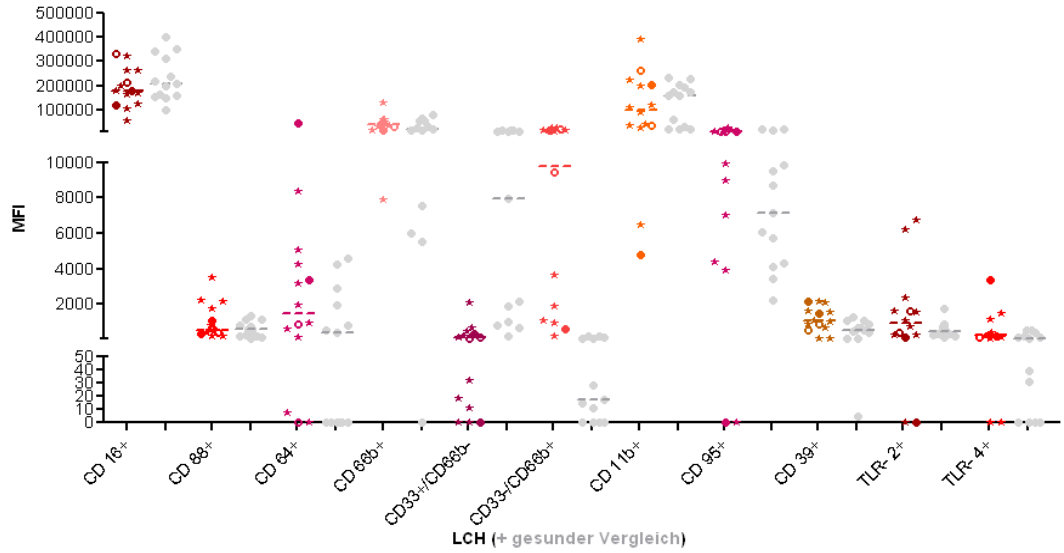

Abbildung10: : Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der LCH- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen LCH- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit ● = Patienten unter Therapie, ★ = Patienten mit unbekanntem Therapiestatus, ○ = Patienten ohne Therapie, --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity; LCH= Langerhanszellhistiozytose

Vergleiche der LCH-Patienten mit den Gesunden anhand der Berechnungen des Mann-Whitney- U-Tests

%Gated- Werte

Tabelle11: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der LCH- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; LCH= Langerhanszellhistiozytose

Gesunder Vergleich vs. LCH	*CD 16*	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il-17R*	*TLR-2*	*TLR-4*	*HLA-DR*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,981*	*0,942*	*0,734*	*0,827*	*0,610*	*0,716*	*0,981*	*0,174*	*0,225*	*0,865*	*0,423*	*0,342*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?												
U- Wert	*90*	*89*	*83*	*86*	*80*	*83*	*91*	*62*	*65*	*87*	*74*	*71*

MFI- Werte:

Tabelle12: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der LCH- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; LCH= Langerhanszellhistiozytose; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Gesunder Vergleich vs. LCH	*CD 16+*	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,369*	*0,297*	*0,081*	*0,199*	*0,000*	*0,000*	*0,903*	*0,512*	*0,024*	*0,369*	*0,092*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?					***	***			*		
U- Wert	*72*	*69*	*55*	*64*	*8*	*1*	*88*	*77*	*44*	*72*	*56*

Hinsichtlich des Vergleichs mit dem gesunden Probandenkollektiv ergeben sich für die %Gated- Werte der ausgewählten CD- Marker bis auf wenige Ausreißer keine erwähnenswerten Besonderheiten der LCH- Gruppe. Im statistischen Test können ebenfalls keine Unterschiede errechnet werden. Auch die MFI- Werte zeigen insgesamt nur drei relevante Ergebnisse.

Die MFI- Werte für CD 33+/ CD 66b- sind im Vergleich mit den Ergebnissen der gesunden Probanden sehr auffällig: Zwar zeigen sich acht der vierzehn Werte im Bereich der niedrigwertigeren der beiden Populationswolken der Gesunden, diese sind jedoch mit einer Ausnahme eher im unteren Anteil zu finden. Die sechs restlichen LCH- Werte befinden sich nicht etwa in der zweiten Ansammlung, die sich bei den Gesunden ergibt, sondern an ganz anderer Stelle und bilden damit einen neuen Wertebereich, den es nur bei den LCH- Patienten zu geben scheint. Damit sind die LCH- Patienten in ihrer CD 33+/ CD 66b- -Ausprägungen im Gesamten deutlich niedriger als die gesunden Probanden. Die Statistik zeigt mit einem p- Wert= 0,000 und einem U- Wert = 8 einen höchst signifikanten Unterschied zu der gesunden Probandengruppe auf.

Die Dreiteilung der MFI- Ergebnisse für CD 33-/ CD 66b+, die für die gesunden Personen besteht, ist hier nicht zu erkennen. Nur ein einziger Wert findet sich unterhalb des Maximums der Gesunden. Alle weiteren Ergebnisse der LCH- Gruppe sind deutlich höher. Damit ist auch hier ein höchst signifikanter Unterschied errechenbar (p= 0,000 und U= 1).

Die MFI- CD 39+ - Ergebnisse der LCH- Patienten sind mit ihren Werten leicht nach oben versetzt im Vergleich mit den Gesunden. Sechs ihrer Werte liegen eindeutig über dem gesunden Grenzbereich. Es ergibt sich bei der Berechnung für CD 39+ ein signifikanter p-Wert= 0,024.

Auch bei den LCH- Patienten sollen Auffälligkeiten zwischen den signifikanten Werten und dem Therapiestatus kurz verglichen werden:

Bei dem Marker CD 33-/ CD 66b+ liegen beide Patienten ohne Therapie in der oberen Populationswolke und gehören damit zu den Werten, die sich besonders stark vom gesunden Vergleich unterscheiden.

Für die MFI- Werte von CD 39+ ist zu bemerken, dass die beiden Nichttherapierten unterhalb des Medianwertes der anderen LCH- Patienten liegen.

Zusammenfassung

Tendenzen der LCH- Gruppe / „CD- Marker- Profil“ (gemäß Mann- Whitney- U- Test)

Im folgenden Diagramm werden die sich oben ergebenen Tendenzen (gemäß den Ergebnissen des statistischen Tests) zusammengefasst dargestellt.

Tabelle13: Darstellung des CD- Marker- Profils der LCH- Gruppe. Die gelb markierten Pfeile kennzeichnen diejenigen der Oberflächenmarker, die Unterschiede zu den gesunden Probanden aufweisen und damit also am ehesten zur Anfertigung eines charakteristischen Profils von CD- Markern bei LCH- Erkrankten verwendet werden könnten. ↓= signifikant niedrigere Ergebniswerte; ↑= signifikant höhere Ergebniswerte; →= keine signifikant unterschiedlichen Ergebniswerte; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; LCH= Langerhanszellhistiozytose; MFI= Mean Fluorescence Intensity; Farben dienen zur verbesserten Übersichtlichkeit

	CD 16	**CD 88**	**CD 64**	**CD 66b**	**CD 11b**	**CD 95**	**CD 33**	**CD 39**	**Il 17R**	**TLR-2**	**TLR-4**	**HLA-DR**
% Gated	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CD 16+	CD 88+	CD 64+	CD 66b+	CD 33+/ CD 66b-	CD 33-/ CD 66b+	CD 11b+	CD 95+	CD 39+	TLR-2+	TLR-4+	
MFI	→	→	→	→	↓	↑	→	→	↑	→	→	

3.1.4. CD- Marker Profil der OTS- Patienten

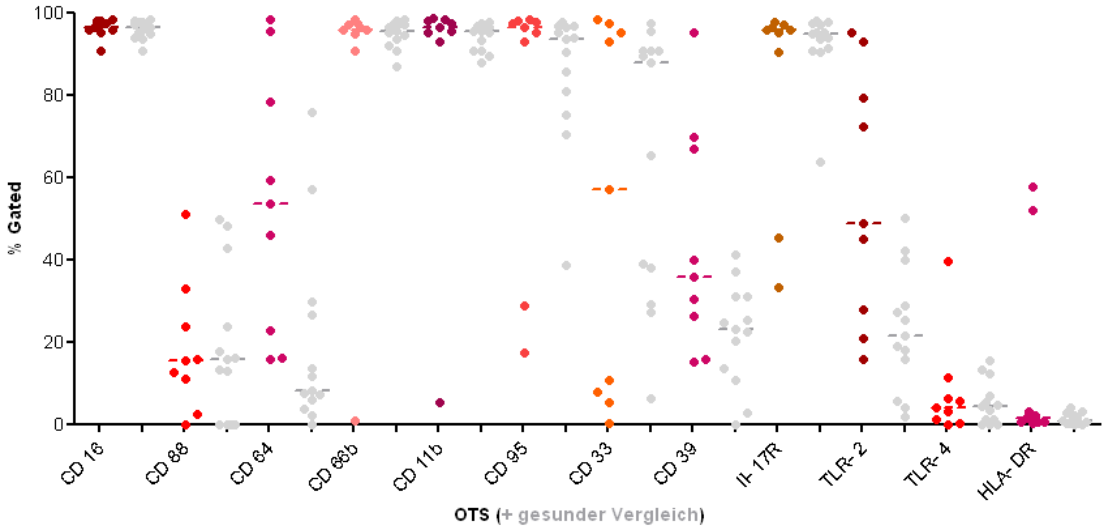

Abbildung11: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der OTS- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen OTS- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin, TLR= Toll-like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; OTS= Overtrainingsyndrom

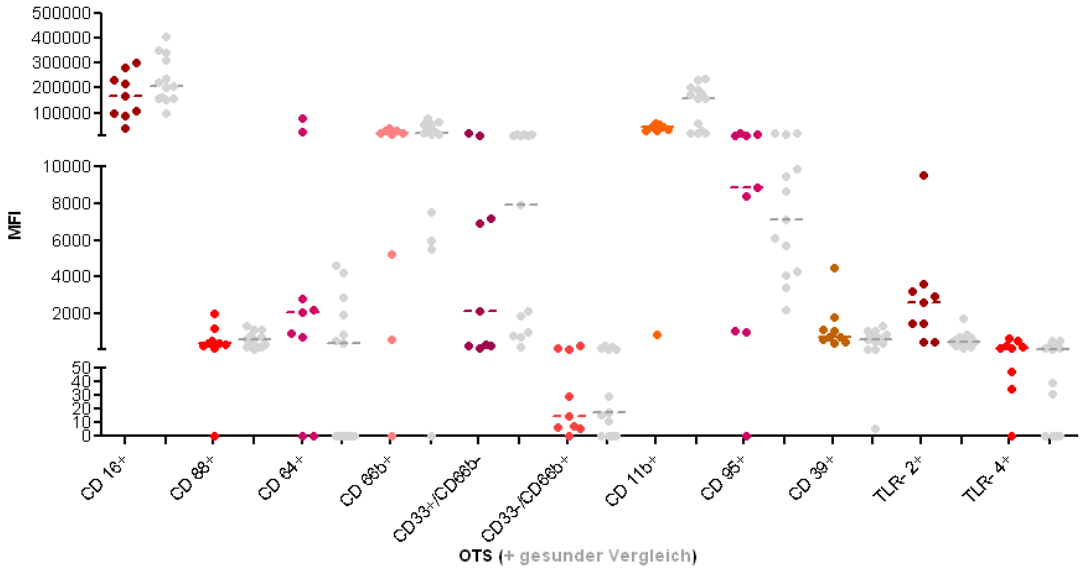

Abbildung12: : Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der OTS- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen OTS- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity; OTS= Overtrainingsyndrom

Vergleiche der OTS-Patienten mit den Gesunden anhand der Berechnungen des Mann-Whitney- U-Tests

%Gated- Werte:

Tabelle14: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der OTS- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; OTS= Overtrainingsyndrom

Gesunder Vergleich vs. OTS	*CD 16*	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il-17R*	*TLR-2*	*TLR-4*	*HLA-DR*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,664*	*1,000*	*0,006*	*0,894*	*0,317*	*0,285*	*0,789*	*0,053*	*1,000*	*0,019*	*0,789*	*0270*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?			**							*		
U- Wert	*52*	*58*	*17*	*56*	*43*	*42*	*54*	*29*	*58*	*23*	*54*	*41*
Sportler-Subgruppe vs. OTS												
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,963*	*0,306*	*0,006*	*0,673*	*0,114*	*0,093*	*0,481*	*0,167*	*0,815*	*0,075*	*0,541*	*0,923*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?			**									
U- Wert	*35*	*25*	*8*	*31*	*19*	*18*	*28*	*21*	*33*	*17*	*29*	*35*

MFI- Werte:

Tabelle15: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der OTS- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; OTS= Overtrainingsyndrom; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Gesunder Vergleich vs. OTS	*CD 16+*	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,229*	*0,789*	*0,171*	*0,526*	*0,317*	*1,000*	*0,083*	*0,947*	*0,109*	*0,003*	*0,283*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?										**	
U- Wert	*40*	*54*	*38*	*48*	*43*	*58*	*32*	*57*	*34*	*14*	*42*
Sportler-Subgruppe vs. OTS											
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,093*	*0,963*	*0,735*	*0,178*	*0,047*	*0,200*	*0,000*	*0,541*	*0,321*	*0,006*	*0,699*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?					*		***			**	
U- Wert	*18*	*35*	*32*	*22*	*15*	*22*	*0*	*29*	*25*	*8*	*32*

Die Gruppe der OTS- Patienten zeigt sich, verglichen mit den oben dargelegten Patientengruppen der HLH- und der LCH- Erkrankten, im Gesamtüberblick homogener. Ebenso wie im gesunden Vergleich sammeln sich die Ergebnisse dieses Kollektivs bei vielen Markern in engbegrenzten Bereichen.

Die %Gated- Ergebnisse für CD 64 sind sehr auffallend. Alle Werte der OTS- Patienten liegen oberhalb der Populationswolke des gesunden Vergleichs. Ein hoch signifikanter Unterschied ist mit einem p- Wert= 0,006 und einem U- Wert= 17 berechenbar.

Eine Besonderheit der %Gated- Marker- Ausprägungen stellt sich auch bei TLR- 2 dar. Hier lassen sich keine Populationswolken unterteilen. Die Werte der Gesunden sind tendenziell eher niedriger und liegen mit einer Ausnahme deutlich unterhalb des Medianwertes der OTS- Gruppe. Dies kann auch beim Mann- Whitney- U- Test bestätigt werden. Ein signifikanter p- Wert von 0,019 kann errechnet werden.

Weniger als die Hälfte der OTS- Patienten sind bezüglich ihrer MFI- TLR- 2- Ergebnisse in dem Wertbereich der Gesunden zu finden, alle anderen sind deutlich höher. Die OTS- Patienten scheinen damit tendenziell höhere Werte zu haben. Die Statistik ist hier sogar hoch signifikant (p= 0,003).

Zur differenzierten Betrachtung der Sportler- Subgruppe im Vergleich mit den OTS- Patienten sind im unteren Abschnitt der OTS- Tabellen 12 und 13 zusätzlich Unterschiede zwischen „gesunden“ und „kranken“ Sportlern berechnet worden: Dabei ergaben sich insgesamt drei Unterschiede zu den Werten des Vergleichs mit der gesamten Gruppe der Gesunden:

Im Gegensatz zur kompletten gesunden Vergleichsgruppe zeigt sich bei der differenzierten Betrachtung der Sportler- Subgruppe im Vergleich mit den OTS- Patienten kein signifikanter Unterschied in der % Gated- TLR- 2- Expression.

Für CD 33+/ CD 66b- weist die Sportler- Subgruppe höhere MFI- Ergebnisse auf als die Nicht- Sportler- Subgruppe. Es ist dementsprechend ein signifikanter Unterschied nachweisbar, wenn man die Sportler- Subgruppe getrennt von den übrigen Gesunden den OTS- Erkrankten im Mann- Whitney- U- Test gegenüberstellt.

Die MFI- CD 11b+- Ergebnisse sind im Vergleich der OTS- Patienten mit den gesunden Sportlern höchstsignifikant zu unterscheiden.

Zusammenfassung

Tendenzen der OTS- Gruppe / „CD- Marker- Profil“ (gemäß Mann- Whitney- U- Test)

Im folgenden Diagramm werden die sich oben ergebenen Tendenzen (gemäß den Ergebnissen des statistischen Tests) zusammengefasst dargestellt.

Tabelle16: Darstellung des CD- Marker- Profils der OTS- Gruppe. Die gelb markierten Pfeile kennzeichnen diejenigen der Oberflächenmarker, die Unterschiede zu den gesunden Probanden aufweisen und damit also am ehesten zur Anfertigung eines charakteristischen Profils von CD- Markern bei OTS- Erkrankten verwendet werden könnten; die Pfeile in der Klammer zeigen die signifikanten Ergebnisse an, die sich beim Vergleich der Sportler- Subgruppe mit den OTS- Patienten ergaben; ↓= signifikant niedrigere Ergebniswerte; ↑= signifikant höhere Ergebniswerte; →= keine signifikant unterschiedlichen Ergebniswerte; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; OTS= Overtrainingsyndrom; MFI= Mean Fluorescence Intensity; Farben dienen zur verbesserten Übersichtlichkeit

	CD 16	**CD 88**	**CD 64**	**CD 66b**	**CD 11b**	**CD 95**	**CD 33**	**CD 39**	**Il 17R**	**TLR-2**	**TLR-4**	**HLA-DR**
% Gated	→	→	↑ (↑)	→	→	→	→	→	→	↑	→	→
	CD 16+	CD 88+	CD 64+	CD 66b+	CD 33+/ CD 66b-	CD 33-/ CD 66b+	CD 11b+	CD 95+	CD 39+	TLR-2+	TLR-4+	
MFI	→	→	→	→	→ (↑)	→	→(↑)	→	→	↑ (↑)	→	

3.1.5. CD- Marker Profil der Sepsis- Patienten

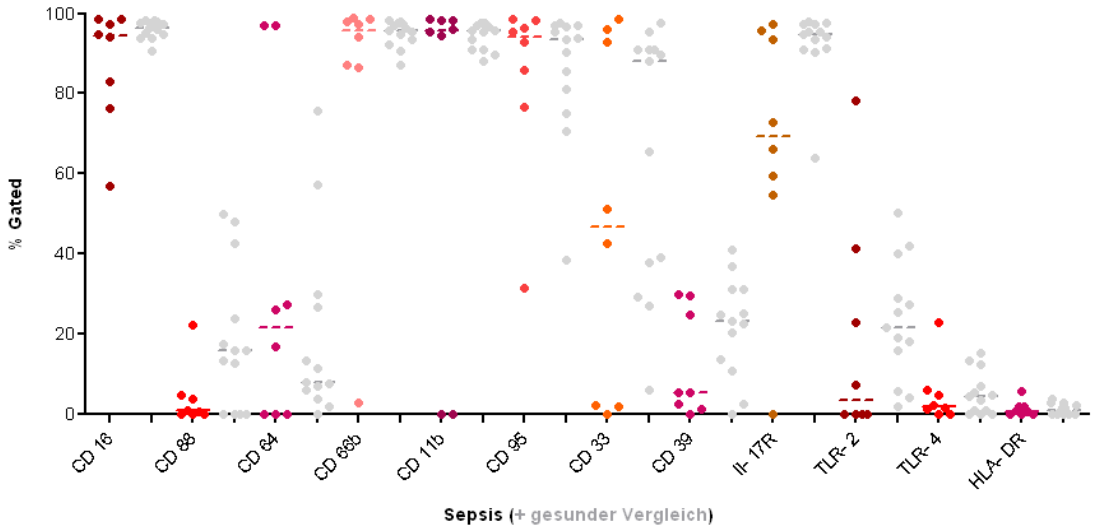

Abbildung13: : Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der Sepsis- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen Sepsis- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin, TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen

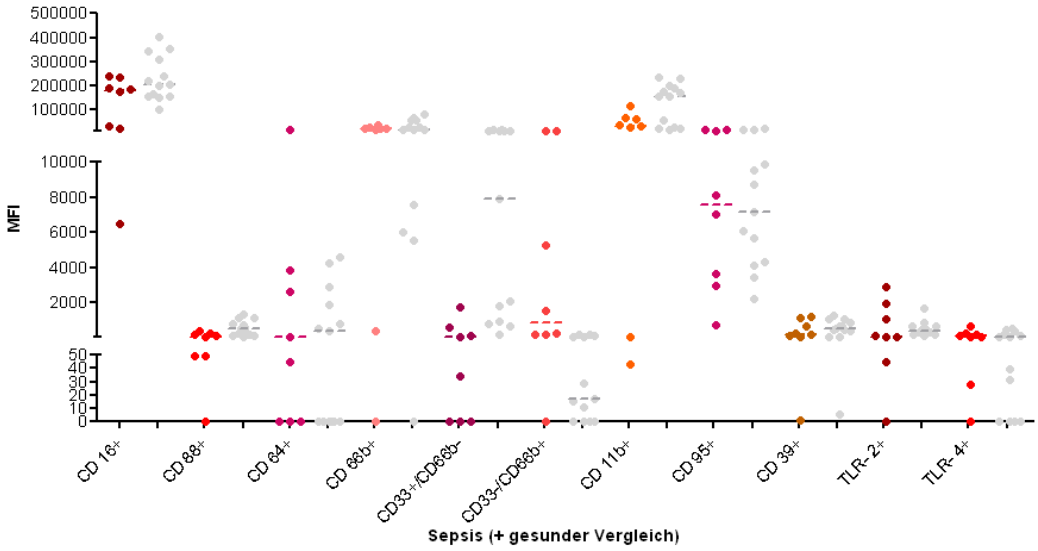

Abbildung14: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der Sepsis- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen Sepsis- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Vergleiche der Sepsis- Patienten mit den Gesunden anhand der Berechnungen des Mann-Whitney- U-Tests

%Gated- Werte:

Tabelle17: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der Sepsis-Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen

Gesunder Vergleich vs. Sepsis	*CD 16*	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il-17R*	*TLR-2*	*TLR-4*	*HLA-DR*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,426*	*0,130*	*0,828*	*0,971*	*0,690*	*0,690*	*0,690*	*0,169*	*0,169*	*0,205*	*0,689*	*0,743*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?												
U- Wert	*41*	*31*	*49*	*51*	*46*	*46*	*46*	*33*	*33*	*34*	*46*	*47*

MFI- Werte:

Tabelle18: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der Sepsis-Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Gesunder Vergleich vs. Sepsis	*CD 16+*	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,158*	*0,010*	*0,850*	*0,664*	*0,001*	*0,004*	*0,065*	*0,690*	*0,638*	*0,328*	*0,489*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?		*			***	**					
U- Wert	*32*	*16*	*49*	*46*	*5*	*12*	*26*	*46*	*45*	*38*	*42*

Die Sepsis- Patientengruppe zeigt im groben Überblick nur wenige Besonderheiten auf. Bei keinem der hier verwendeten CD- Marker wird ein signifikanter Unterschied der %Gated- Ergebniswerte auffällig. Es können zwar einzelne Auffälligkeiten, wie in obigem Diagramm ersichtlich, ausgemacht werden, diese sind statistisch gesehen jedoch nicht relevant.

Für die MFI- Ergebnisse ergeben sich drei Auffälligkeiten.

Die MFI- Werte für CD 88+ sind dem Wertebereich der Gesunden ähnlich, jedoch leicht nach unten verschoben. Die statistische Berechnung bestätigt die vorliegenden erniedrigten Sepsis- Werte mit einem signifikanten Unterschied mit p= 0,010.

Für die MFI-Werte für CD 33+/ CD 66b- lassen sich ein p-Wert von 0,001 und ein U-Wert von 5 berechnen. Damit liegt ein höchst signifikanter Unterschied zwischen Gesunden und Sepsis- Patienten vor, die Sepsis- Gruppe weist relevant erniedrigte Ergebnisse auf.

Auch die Ergebnisse für CD 33-/ CD 66b+ unterscheiden sich sehr von der gesunden Population. Im Mann- Whitney- U- Test ergeben sich ein p- Wert von 0,004 und ein U von 12. Damit besteht hier ein hoch signifikanter Unterschied.

Da sich die Patienten dieser Gruppe (bis auf eine Ausnahme) alle im septischen Schock befinden und damit demselben Schweregrad einer Sepsis entsprechen, sind an dieser Stelle keine Vergleiche untereinander notwendig.

Zusammenfassung

Tendenzen der Sepsis- Gruppe / „CD- Marker- Profil“ (gemäß Mann- Whitney- U- Test)

Im folgenden Diagramm werden die sich oben ergebenen Tendenzen (gemäß den Ergebnissen des statistischen Tests) zusammengefasst dargestellt.

Tabelle19: Darstellung des CD- Marker- Profils der Sepsis- Gruppe. Die gelb markierten Pfeile kennzeichnen diejenigen der Oberflächenmarker, die Unterschiede zu den gesunden Probanden aufweisen und damit also am ehesten zur Anfertigung eines charakteristischen Profils von CD- Markern bei Sepsis- Erkrankten verwendet werden könnten. ↓= signifikant niedrigere Ergebniswerte; ↑= signifikant höhere Ergebniswerte; →= keine signifikant unterschiedlichen Ergebniswerte; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; MFI= Mean Fluorescence Intensity; Farben dienen zur verbesserten Übersichtlichkeit

	CD 16	**CD 88**	**CD 64**	**CD 66b**	**CD 11b**	**CD 95**	**CD 33**	**CD 39**	**Il 17R**	**TLR-2**	**TLR-4**	**HLA-DR**
% Gated	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→	→
	CD 16+	CD 88+	CD 64+	CD 66b+	CD 33+/ CD 66b-	CD 33-/ CD 66b+	CD 11b+	CD 95+	CD 39+	TLR-2+	TLR-4+	
MFI	→	↓	→	→	↓	↑	→	→	→	→	→	

3.1.6. CD- Marker Profil der Polytrauma- Patienten zum Zeitpunkt von 24h nach Trauma

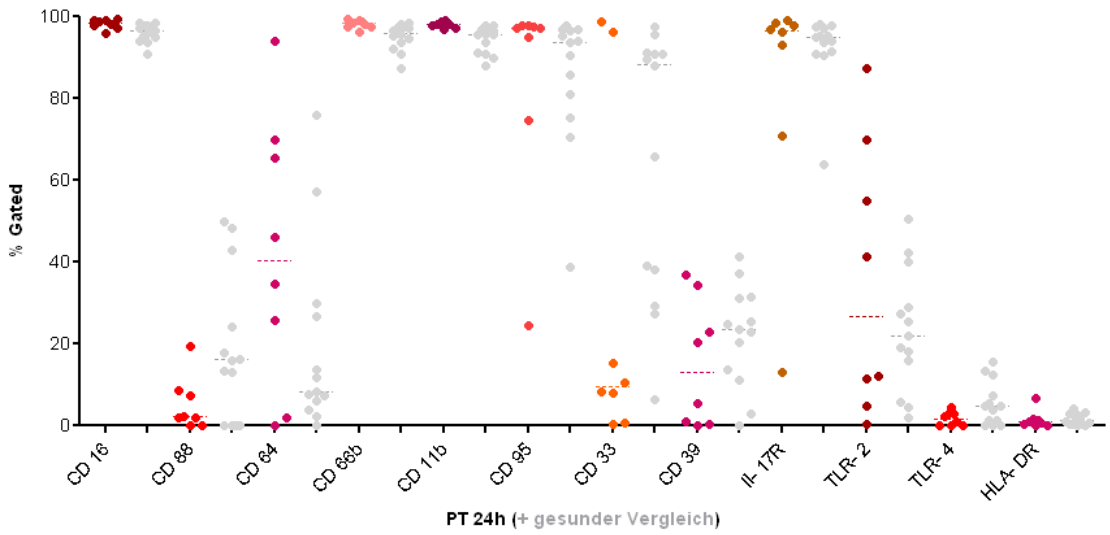

Abbildung15: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der Polytrauma- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen Polytrauma- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin, TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; PT= Polytrauma

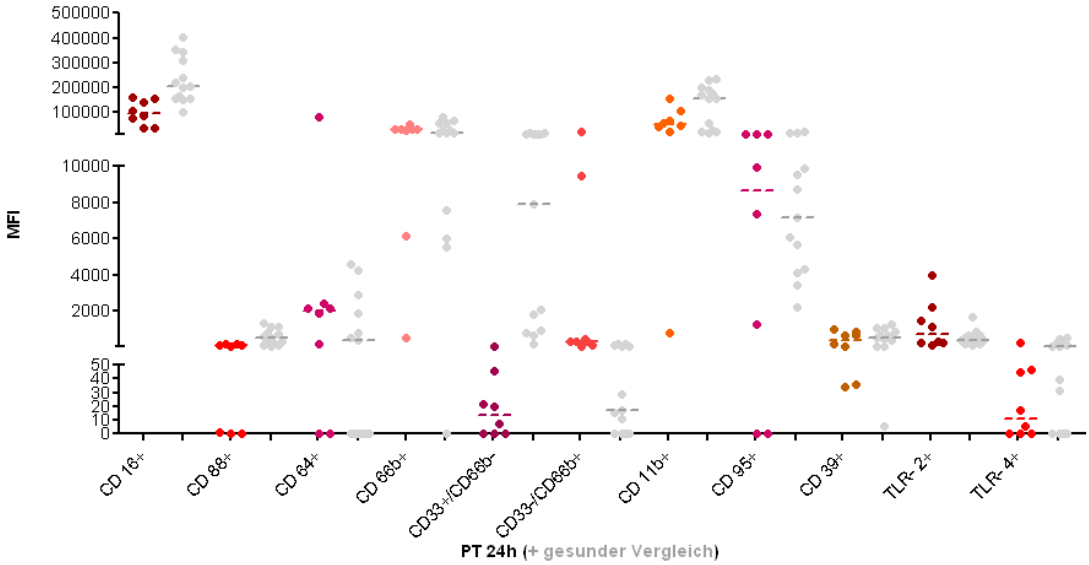

Abbildung16: Übersicht der CD- Marker- Ausprägungen der Polytrauma- Patientengruppe. Zur Gegenüberstellung sind die Ergebnisse des gesunden Vergleichs als grau- gefärbte, weitere Population hinter der eigentlichen Polytrauma- Population dargestellt; Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit --- = Medianwert des jeweiligen Markers; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity; PT= Polytrauma

Vergleiche der Polytrauma- Patienten mit den Gesunden anhand der Berechnungen des Mann- Whitney- U-Tests

%Gated- Werte:

Tabelle20: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der PT- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; PT= Polytrauma

Gesunder Vergleich vs. PT 24h	*CD 16*	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il-17R*	*TLR-2*	*TLR-4*	*HLA-DR*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,019*	*0,175*	*0,218*	*0,007*	*0,001*	*0,180*	*0,103*	*0,277*	*0,538*	*0,690*	*0,102*	*0,637*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?	*			**	**							
U- Wert	*19*	*33*	*35*	*14*	*7*	*33*	*29*	*37*	*43*	*46*	*29*	*45*

MFI- Werte:

Tabelle21: Mann- Whitney- U- Test für den Vergleich der diversen CD- Marker der gesunden Probanden mit denen der PT- Patienten; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur verbesserten Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; PT= Polytrauma; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Gesunder Vergleich vs. PT 24h	*CD 16+*	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,002*	*0,004*	*0,352*	*0,745*	*0,000*	*0,001*	*0,103*	*0,745*	*0,492*	*0,538*	*0,356*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*	*nein*
Wenn ja, wie signifikant?	**	**			***	**					
U- Wert	*8*	*12*	*39*	*47*	*0*	*7*	*29*	*47*	*42*	*43*	*39*

Bei Betrachtung der %Gated- Ergebnisse der PT- Gruppe ergeben sich Auffälligkeiten für die Populationswolken der Marker CD 16, CD 66b und CD 11b. Alle drei Marker weisen Werte auf, die in etwa denen des gesunden Vergleichs entsprechen. Die Wertbereiche sind jedoch leicht nach oben versetzt und enger begrenzt. Die Berechnungen im statistischen Test ergeben für CD 66b mit p= 0,007 und für CD 11b mit p= 0,001 hoch signifikante Unterschiede im Vergleich mit den Gesunden. Ein weiterer signifikanter Unterschied wird für CD 16 berechnet mit p= 0,019 und U= 19.

Für die MFI- Werte von CD 16+ liegen nur die Hälfte der PT- Patienten innerhalb des Ergebnisbereichs der Werte der Gesunden. Die andere Hälfte liegt deutlich darunter. Die PT- Gruppe weist also eine geringere Expressionsdichte für CD 16+ auf als die Gesunden. Als Bestätigung kann man p= 0,002 (mit U= 8) als hoch signifikanten Wert ermitteln.

Für MFI- CD 88+ sind eher erniedrigte Werte für die PT- Patienten erkennbar. In der Statistik ist der p- Wert= 0,004 und dadurch auch hier hoch signifikant unterschiedlich zu den Gesunden.

Die gesunde Vergleichsgruppe liegt hinsichtlich ihrer CD 33+/ CD 66b- -Werte ausnahmslos über dem Wertebereich der PT- Gruppe. Für den Marker CD 33+/ CD 66b- ergibt sich dadurch ein höchst signifikanter p- Wert mit p= 0,000.

Mit Ausnahme zweier Werte liegen alle weiteren Ergebnisse der PT- Gruppe für den Marker CD 33-/ CD 66b+ oberhalb des Wertebereichs der Gesunden. Es ist außerdem keine Dreiteilung wie im gesunden Vergleich erkennbar, es besteht lediglich eine Populationswolke mit wenigen Ausreißern außerhalb davon. Für CD 33-/ CD 66b+ erhält man bei der Berechnung des Mann- Whitney- U- Tests den Wert p= 0,001 mit U= 7 und beweist hiermit eine hoch signifikante Abweichung zum gesunden Probandenkollektiv.

Zusammenfassung

Tendenzen der Polytrauma- Gruppe / „CD- Marker- Profil“ (gemäß Mann- Whitney- U-Test)

Im folgenden Diagramm werden die sich oben ergebenen Tendenzen (gemäß den Ergebnissen des statistischen Tests) zusammengefasst dargestellt.

Tabelle22: Darstellung des CD- Marker- Profils der Polytrauma- Gruppe. Die gelb markierten Pfeile kennzeichnen diejenigen der Oberflächenmarker, die Unterschiede zu den gesunden Probanden aufweisen und damit also am ehesten zur Anfertigung eines charakteristischen Profils von CD- Markern bei PT- Erkrankten verwendet werden könnten. ↓= signifikant niedrigere Ergebniswerte; ↑= signifikant höhere Ergebniswerte; →= keine signifikant unterschiedlichen Ergebniswerte; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; PT= Polytrauma; MFI= Mean Fluorescence Intensity; Farben dienen zur verbesserten Übersichtlichkeit

	CD 16	**CD 88**	**CD 64**	**CD 66b**	**CD 11b**	**CD 95**	**CD 33**	**CD 39**	**Il 17R**	**TLR-2**	**TLR-4**	**HLA-DR**
% Gated	↑	→	→	↑	↑	→	→	→	→	→	→	→
	CD 16+	CD 88+	CD 64+	CD 66b+	CD 33+/ CD 66b-	CD 33-/ CD 66b+	CD 11b+	CD 95+	CD 39+	TLR-2+	TLR-4+	
MFI	↓	↓	→	→	↓	↑	→	→	→	→	→	

3.2. Übergeordnete Vergleiche aller Patientengruppen

Nach obiger Beschreibung der einzelnen CD- Marker- Ausprägungen einer bestimmten Erkrankung und dem Vergleich mit dem gesunden Probandenkollektiv sollen nun in einem zweiten Schritt die verschiedenen Erkrankungen auch gegeneinander verglichen werden. Dazu wird der Kruskal- Wallis- Test verwendet. Falls ein signifikanter Unterschied ermittelt werden kann, wird in einem daran anschließenden Dunn's Post Test spezifiziert zwischen welchen der Gruppen dieser berechnete Unterschied vorliegt.

Kruskal- Wallis- Analyse der %Gated- Werte

Tabelle23: Kruskal- Wallis- Test für den Gesamtgruppenvergleich; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll-like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen

Gesamtgruppen-vergleich	*CD 16*	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il-17R*	*TLR-2*	*TLR-4*	*HLA-DR*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,004*	*0,003*	*0,109*	*0,005*	*0,036*	*0,529*	*0,824*	*0,013*	*0,018*	*0,003*	*0,121*	*0,003*
Anzahl der verglichenen Gruppen	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*ja*	*ja*	*nein*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*ja*	*ja*	*ja*	*nein*	*ja*
Wenn ja, wie signifikant?	**	**		**	*			*	*	**		**
H- Wert	*15,49*	*16,05*	*7,56*	*14,90*	*10,31*	*3,18*	*1,51*	*12,73*	*11,96*	*16,12*	*7,29*	*16,08*

Dunn's Post Test

Tabelle24: Dunn's Multiple Comparison Test zum Vergleich der Differenz der Rangsummen zweier Gruppen. *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose; LCH= Langerhanszellhistiozytose; OTS= Overtrainingsyndrom; PT= Polytrauma

	CD 16	*CD 88*	*CD 66b*	*CD 11b*	*TLR- 2*	*HLA- DR*	*HLA- DR*
Signifikante Unterschiede zwischen diesen Gruppen	*HLH vs. PT*	*HLH vs. LCH*	*HLH vs. PT*	*HLH vs. PT*	*HLH vs. OTS*	*HLH vs. Sepsis*	*HLH vs. PT*
Rangsummendifferenz	*-25,88*	*-16,82*	*-26,72*	*-20,53*	*-24,63*	*21,22*	*22,72*
p< 0,05?	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*
Wenn ja, wie signifikant?	**	*	**	*	**	*	*

Für CD 16 ergibt sich ein hoch signifikanter Unterschied der Gruppen gegeneinander (p= 0,004). Durch den Dunn's Post Test stellt sich heraus, dass sich vor allem die Gruppe der HLH- Patienten von der der Polytrauma- Patienten unterscheidet. Mit einer Rangsummendifferenz von -25,88 besitzt die HLH- Gruppe deutlich niedrigere Werte als die Polytrauma- Gruppe.

Der Marker CD 88 zeigt mit einem p- Wert von 0,003 ein ebenfalls hoch signifikantes Ergebnis. Dieses befindet sich zwischen den Gruppen der HLH- und der LCH- Patienten. Mit einer Rangsummendifferenz von -16,82 sind die Werte für die HLH- Gruppe tendenziell niedriger als die für die LCH- Patienten.

Die Berechnungen für CD 66b stellen ein hoch signifikantes Ergebnis (p= 0,005) der Gruppen gegeneinander fest. Bei genauerer Auswertung zeigt sich, dass sich die unterschiedlichen Werte vor allem zwischen den HLH- Patienten und den Polytraumatisierten zeigen (Rangsummendifferenz HLH vs. PT= - 26,72.).

Mit einem p- Wert von 0,036 ist auch der Unterschied bezüglich der CD 11b- Marker-Ausprägungen signifikant. Ebenso wie CD 66b stellt sich hauptsächlich ein Unterschied zwischen HLH und Polytrauma heraus mit der Tendenz deutlich geringerer HLH- Werte. (Rangsummendifferenz HLH vs. PT= - 20,53).

CD 39 (mit p= 0,013) und Il 17R (mit p= 0,018) sind signifikant unterschiedlich in den diversen Patientengruppen. Es kann jedoch keine bestimmte Tendenz hinsichtlich der Verschiedenheiten der einzelnen Gruppen gegeneinander festgestellt werden.

Für den Marker TLR- 2 wird mit dem Kruskal- Wallis- Test ein p- Wert= 0,003 berechnet. Dementsprechend kann man hier von einem hoch signifikanten Unterschied zwischen den Patientenkollektiven sprechen. Mit der Rangsummendifferenz (HLH vs. OTS) von - 24,63 stellt sich heraus, dass die HLH- Patienten und die OTS- Patienten voneinander abweichen.

Mit p= 0,003 ist die HLA- DR- Ausprägung in den Patientengruppen hoch signifikant unterschiedlich. Die Unterschiede sind nach der weiteren Berechnung mit dem Dunn's Post Test mit der Rangsummendifferenz von 21,22 vor allem zwischen den HLH- und den Sepsis- Patienten und mit der Rangsummendifferenz von 22,72 zwischen HLH- und PT-Patienten zu finden. Die HLH- Gruppe hat höhere Werte für HLA- DR.

Kruskal- Wallis- Analyse der MFI- Werte

Tabelle25: Kruskal- Wallis- Test für den Gesamtgruppenvergleich; *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity

Gesamtgruppen-vergleich	*CD 16+*	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
p- Wert (Gauss'sche Approximation)	*0,061*	*0,000*	*0,572*	*0,023*	*0,000*	*0,001*	*0,095*	*0,099*	*0,090*	*0,041*	*0,110*
Anzahl der verglichenen Gruppen	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*	*5*
Sind die Mediane signifikant unterschiedlich? (p< 0,05)	*nein*	*ja*	*nein*	*ja*	*ja*	*ja*	*nein*	*nein*	*nein*	*ja*	*Nein*
Wenn ja, wie signifikant?		***		*	***	***				*	
H- Wert	*9,01*	*20,67*	*2,92*	*11,36*	*30,90*	*19,36*	*7,91*	*7,80*	*8,06*	*10,00*	*7,55*

Dunn's Post Test

Tabelle26: Dunn's Multiple Comparison Test zum Vergleich der Differenz der Rangsummen zweier Gruppen. *= signifikant (p< 0,05); **= hoch signifikant (p< 0,01); ***= höchst signifikant (p< 0,001). Farben dienen lediglich zur Übersichtlichkeit; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose; LCH= Langerhanszellhistiozytose; OTS= Overtrainingsyndrom; PT= Polytrauma; MFI= Mean Fluorescence Intensity

	CD 88+	*CD 88+*	*CD 88+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 33-/ CD 66b+*	*TLR-2+*
Signifikante Unterschiede zwischen diesen Gruppen	*HLH vs. LCH*	*LCH vs. Sepsis*	*LCH vs. PT*	*HLH vs. LCH*	*HLH vs. Sepsis*	*HLH vs. PT*	*OTS vs. PT*	*HLH vs. LCH*	*LCH vs. OTS*	*HLH vs. OTS*
Rangsummendifferenz	*-19,41*	*23,13*	*26,13*	*21,44*	*23,56*	*30,81*	*27,30*	*-17,33*	*28,87*	*-19,16*
p< 0,05?	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*	*ja*
Wenn ja, wie signifikant?	**	*	**	**	**	***	**	*	***	*

Insgesamt sind fünf der Marker gemäß der Kruskal- Wallis- Analyse signifikant unterschiedlich. Der Marker CD 88+ ist mit einem p- Wert von 0,000 höchst signifikant verschieden in den Patientenkollektiven. Besonders hervorzuheben sind die Unterschiede der HLH-, der Sepsis- und der PT- Gruppe zur LCH- Gruppe. Mit einer Rangsummendifferenz von -19,41 wird gezeigt, dass die HLH- Werte niedriger als die Werte der LCH- Gruppe sind. Die Sepsis- Gruppe zeigt (mit der Rangsummendifferenz LCH vs. Sepsis = 23,13) ebenfalls geringere Werte für CD 88+. Für den Vergleich LCH und PT (Rangsummendifferenz LCH vs. PT = 26,13) gilt dies ebenso.

CD 66b+ ist signifikant unterschiedlich im Vergleich, es lässt sich jedoch keine Richtung der Unterschiede und keine Gruppe im Besonderen hervorheben.

Bei den Ergebnissen zu CD 33+/ CD 66b- hingegen ergeben sich einige Auffälligkeiten und Unterschiede der einzelnen Gruppen zueinander. Mit p= 0,000 zeigt sich ein höchst signifikanter Unterschied des Gesamtgruppenvergleichs im Kruskal- Wallis- Test. Betrachtet man dann die Berechnungen des Dunn's Post Tests ergibt sich, dass drei deutliche Unterschiede zwischen den HLH- Patienten und den Gruppen der LCH-, der Sepsis- und der PT- Patienten bestehen. Anhand der Rangsummendifferenzen von 21,44 (HLH vs. LCH), 23,56 (HLH vs. Sepsis) und 30,81 (HLH vs. PT) wird ersichtlich, dass die HLH- Patienten höhere Werte als die drei restlichen Gruppen aufweisen. Ein weiterer Unterschied besteht auch zwischen den OTS- Patienten und der PT- Gruppe. Mit einer Rangsummendifferenz von 27,32 wird gezeigt, dass die OTS- Ergebnisse in höheren Bereichen liegen als die PT- Ergebnisse.

Für CD 33-/ CD 66b+ wird ein p- Wert von 0,001 errechnet. Sowohl die HLH- Gruppe als auch die OTS- Gruppe unterscheiden sich von der LCH- Gruppe durch niedrigere Werte (Rangsummendifferenzen: HLH vs. LCH= -17,33 und LCH vs. OTS= 28,87).

Ein weiterer signifikanter Unterschied liegt mit p= 0,041 bei TLR- 2+ vor. Besonders hervorzuheben ist dabei die Verschiedenheit, die zwischen der HLH- Gruppe und der OTS- Gruppe besteht. Mit der Rangsummendifferenz von -19, 16 wird gezeigt, dass die Ergebnisse der HLH- Patienten niedriger sind als die der OTS- Patienten.

Zusammenfassung des Gesamtgruppenvergleichs

%Gated- Werte

Tabelle27: Übersicht der durch den Dunn's Multiple Comparison Test errechneten signifikanten Rangsummendifferenzen zwischen jeweils zwei Patientengruppen. ↑/↓ bedeuten, dass die davorstehende Gruppe höhere/ bzw. niedrigere %Gated- Ergebniswerte bezüglich des obenstehenden Markers im Vergleich zur in der linken Tabellenspalte stehenden Gruppe hat. Farben dienen lediglich zur Übersichtlichkeit; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose; LCH= Langerhanszellhistiozytose, OTS= Overtrainingsyndrom; PT= Polytrauma; CD= Cluster of Differentiation; Il= Interleukin; TLR= Toll- like- Rezeptor; HLA= Human Leukocyte Antigen

	CD 16	*CD 88*	*CD 64*	*CD 66b*	*CD 11b*	*CD 95*	*CD 33*	*CD 39*	*Il- 17R*	*TLR- 2*	*TLR- 4*	*HLA-DR*
HLH	*PT*↑	*LCH*↑		*PT*↑	*PT*↑					*OTS*↑		*Sepsis*↓ *PT* ↓
LCH		*HLH*↓										
OTS										*HLH*↓		
Sepsis												*HLH*↑
PT	*HLH*↓			*HLH*↓	*HLH*↓							*HLH*↑

MFI- Werte

Tabelle28: Übersicht der durch den Dunn's Multiple Comparison Test errechneten signifikanten Rangsummendifferenzen zwischen jeweils zwei Patientengruppen. ↑/↓ bedeuten, dass die davorstehende Gruppe höhere/ bzw. niedrigere MFI- Ergebniswerte bezüglich des obenstehenden Markers im Vergleich zur in der linken Tabellenspalte stehenden Gruppe hat. Farben dienen lediglich zur Übersichtlichkeit; HLH= hämophagozytische Lymphohistiozytose; LCH= Langerhanszellhistiozytose, OTS= Overtrainingsyndrom; PT= Polytrauma; CD= Cluster of Differentiation; TLR= Toll- like- Rezeptor; MFI= Mean Fluorescence Intensity

	CD 16+	*CD 88+*	*CD 64+*	*CD 66b+*	*CD 33+/ CD 66b-*	*CD 33-/ CD 66b+*	*CD 11b+*	*CD 95+*	*CD 39+*	*TLR-2+*	*TLR-4+*
HLH		*LCH*↑			*LCH*↓ *Sepsis*↓ *PT*↓	*LCH*↑				*OTS*↑	
LCH		*Sepsis*↓ *PT*↓ *HLH*↓			*HLH*↑	*HLH*↓ *OTS*↓					
OTS					*PT*↓	*LCH*↑				*HLH*↓	
Sepsis		*LCH*↑			*HLH*↑						
PT		*LCH*↑			*HLH*↑ *OTS*↑						

3.3. Polytrauma- Verläufe

Im dritten Abschnitt werden die acht Polytrauma- Patienten in ihrer zeitlichen Entwicklung näher betrachtet. Dazu wird jeder Marker einzeln im Verlauf dargestellt.

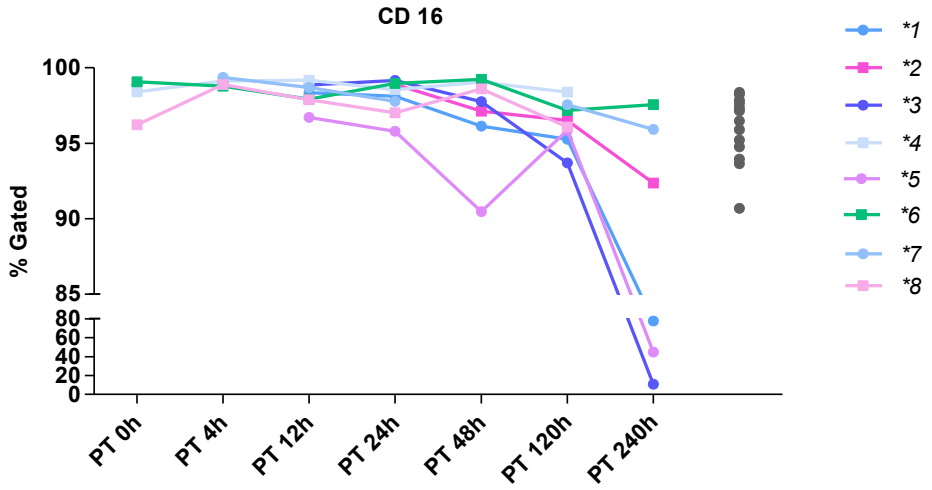

Abbildung17: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Fast alle Patienten haben zum Zeitpunkt 240h niedrigere %Gated- Werte als direkt nach dem traumatischen Ereignis. Man kann folglich sagen, die CD 16- Expression im Verlauf der Zeit absinkt. Patient *5 zeigt einen besonders auffälligen Wert bei PT 48h. Patient *6 ist der einzige, der zum gemessenen Endwert hin einen Anstieg aufzeigt, während alle anderen abfallen, besonders die Patienten *1, *3 und *5.

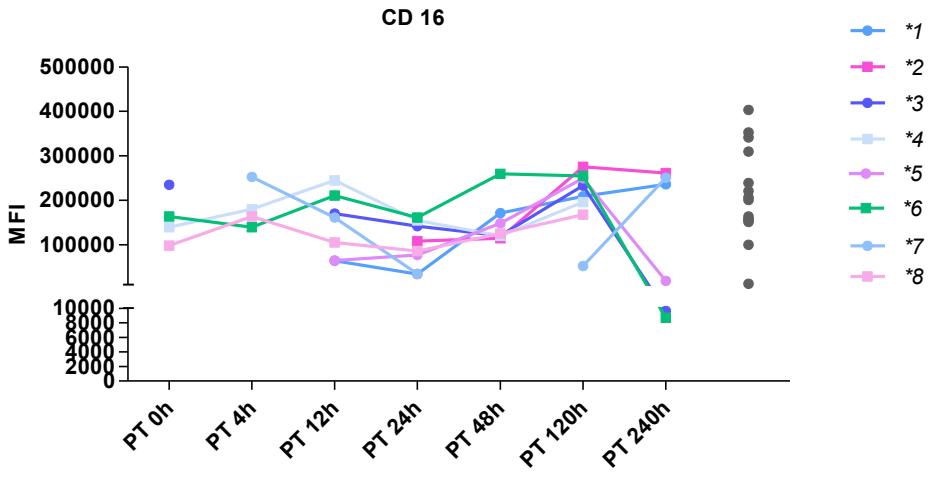

Abbildung18: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Die MFI- Ergebnisse sind weniger einheitlich. Bei allen Patienten ist im Verlauf der Messungen abwechselnd Ansteigen und Abfallen der MFI- Werte erkennbar. Es ist kein Muster herauszulesen.

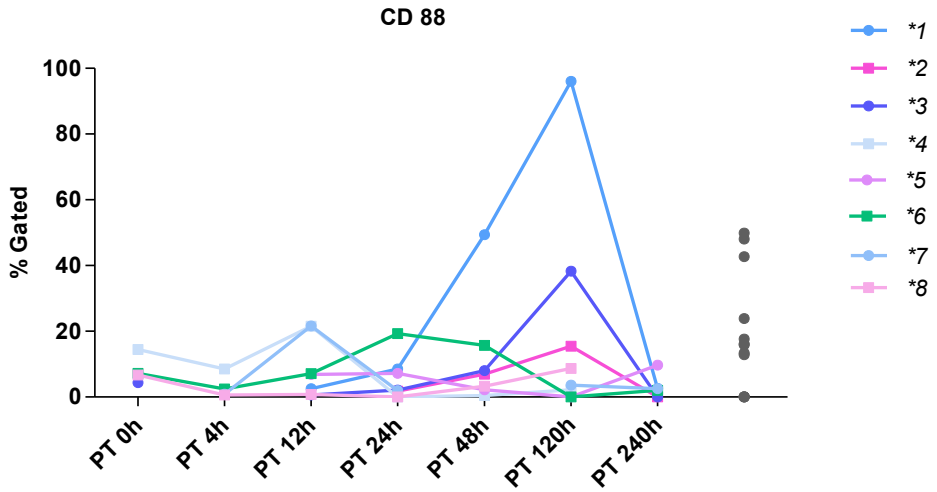

Abbildung19: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Mit Ausnahme der Patienten *5 und *8 zeigen alle anderen im posttraumatischen Verlauf einen Anstieg der CD 88- %Gated- Werte mit anschließendem Wiederabfall. Die Maximalwerte sind bei den Patienten zu unterschiedlichen Zeiten erreicht. Besonders hervorstechend ist der Wert des Patienten *1 bei PT 120h.

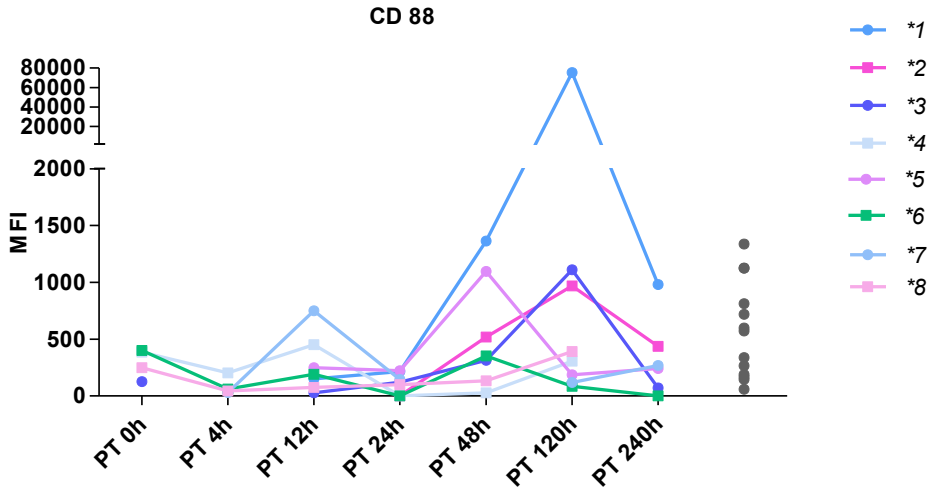

Abbildung20: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Die MFI- Entwicklung ähnelt dem Verlauf der Prozentwerte. Auch hier fällt der Patient *1 mit deutlich erhöhtem Wert bei PT 120h auf.

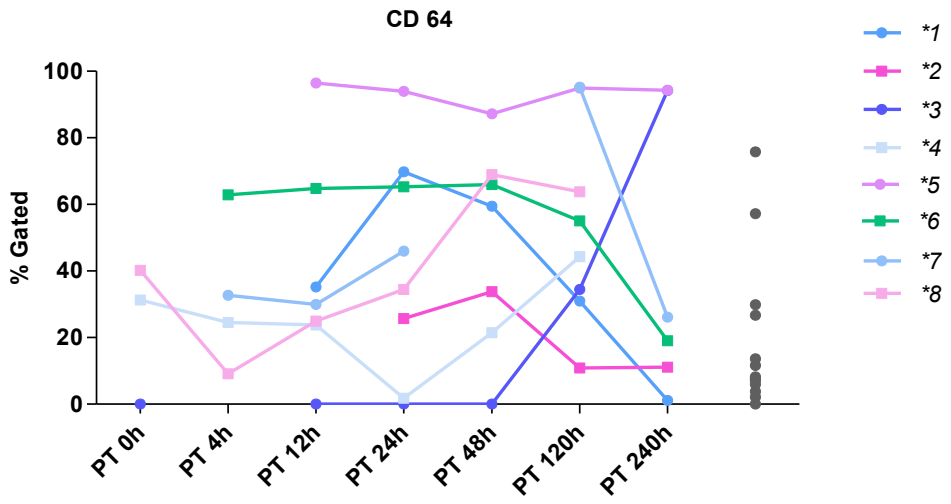

Abbildung21: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Für CD 64 sind keine klaren Tendenzen aus dem Verlauf ersichtlich. Eine Auffälligkeit ergibt sich für den Patienten *5, der die gesamte Zeit über konstant Werte >85% aufzeigt. Auch Patient *3 ist auffallend, besonders durch den starken Anstieg nach PT 48h.

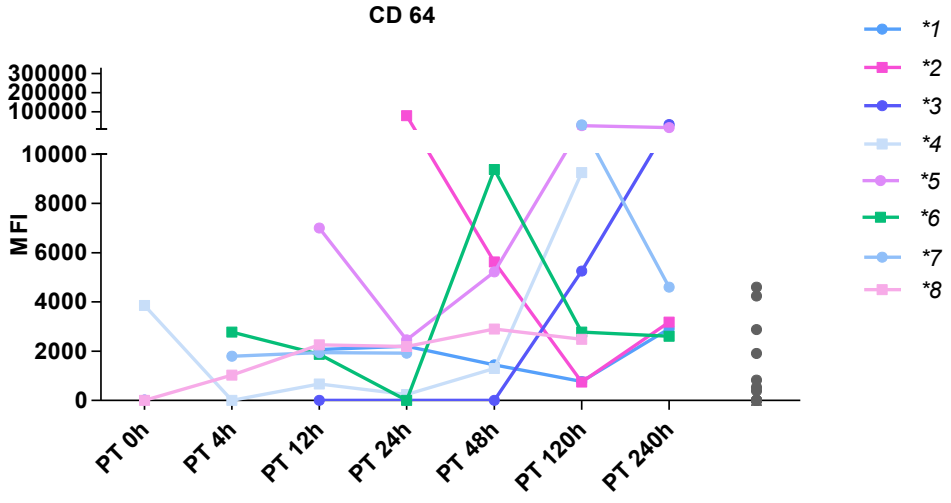

Abbildung22: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Auch hier finden sich auf den ersten Blick keine eindeutigen Ausrichtungen. Die bei den %Gated- Werten hervorgetretenen Patienten *3 und *5 sind wieder bei PT 240h besonders erhöht, bzw. haben sogar die hier ermittelten Höchstwerte.

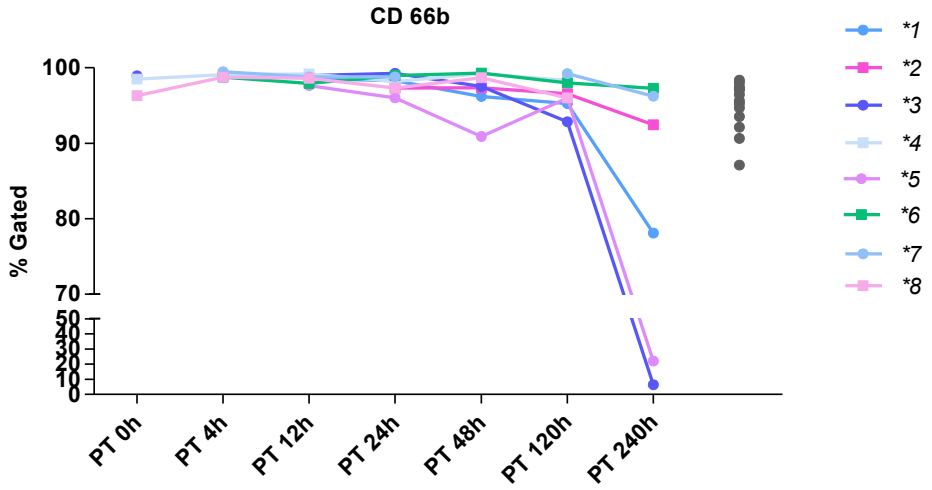

Abbildung23: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Alle acht Polytraumatisierten sind mit ihren initial gemessenen Werten höher als an ihren Endpunkten. Für die Mehrheit sind die größten Abfälle jeweils zwischen 120h und 240h.

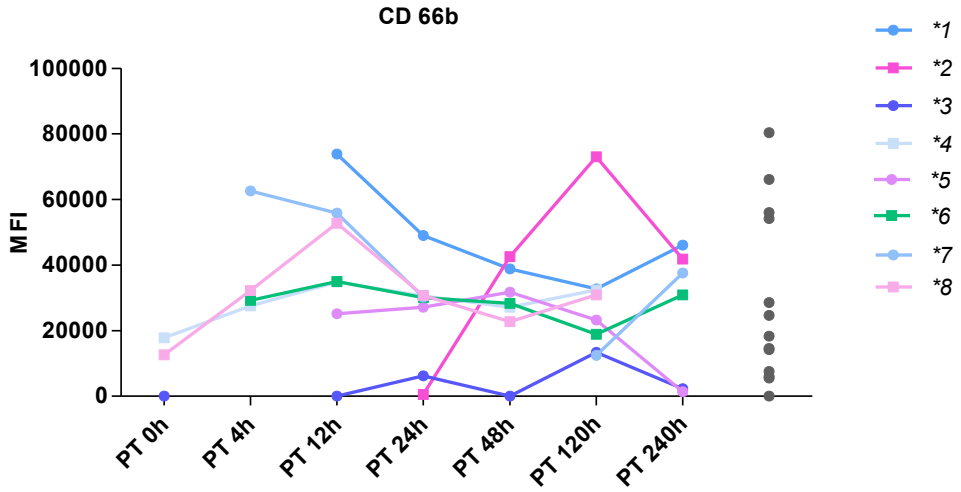

Abbildung24: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

CD 66b+ zeigt keine besonderen Ausrichtungen der acht Polytraumatisierten. Die Patienten *3 und *5 sind bei PT 240h stark erniedrigt, während alle weiteren Polytraumatisierten in einem begrenzten, weiter oben liegenden Bereich zusammenlaufen.

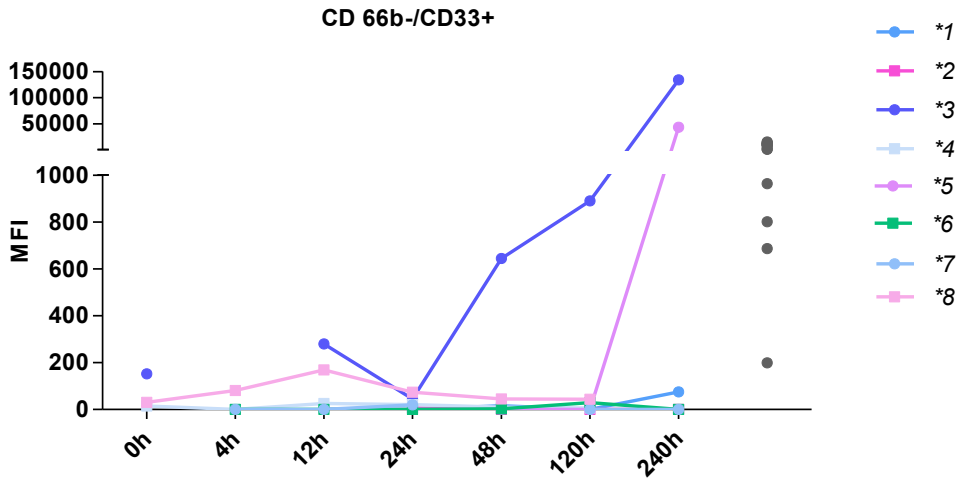

Abbildung25: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Die Polytrauma- Gruppe ist hier gekennzeichnet durch besonders niedrige Werte. Hervorzuheben sind die Patienten *3 und *5, da sie an verschiedenen Messzeitpunkten vor allem aber bei ihren Messungen zu PT 240h posttraumatisch stark erhöhte Werte aufweisen verglichen mit den anderen Polytrauma- Patienten.

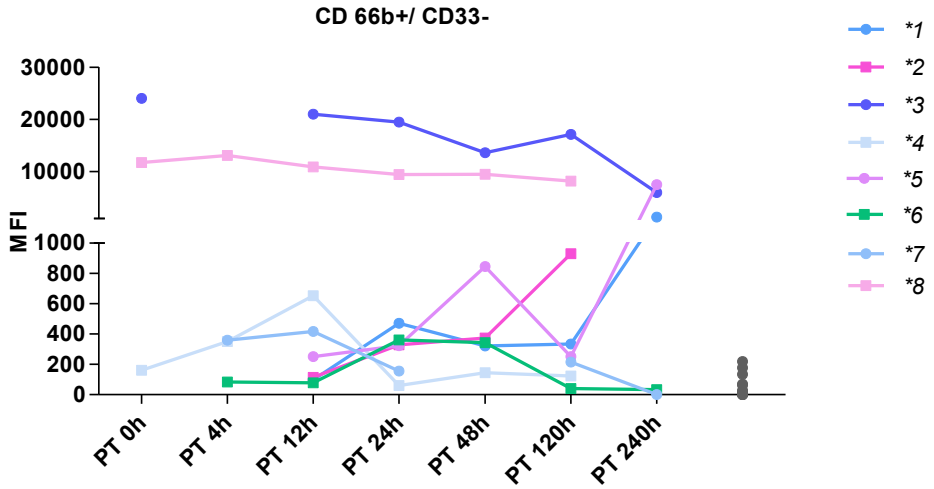

Abbildung26: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Besondere Verläufe zeigen sich für die Patienten *3 und *8, die stark erhöhte MFI- Werte über den gesamten Messzeitraum haben. *1, *2 und *5 liegen größtenteils in niedrigeren Wertebereichen, steigen jedoch an ihren jeweiligen letzten Messpunkten deutlich an und liegen dann ebenfalls sehr viel höher.

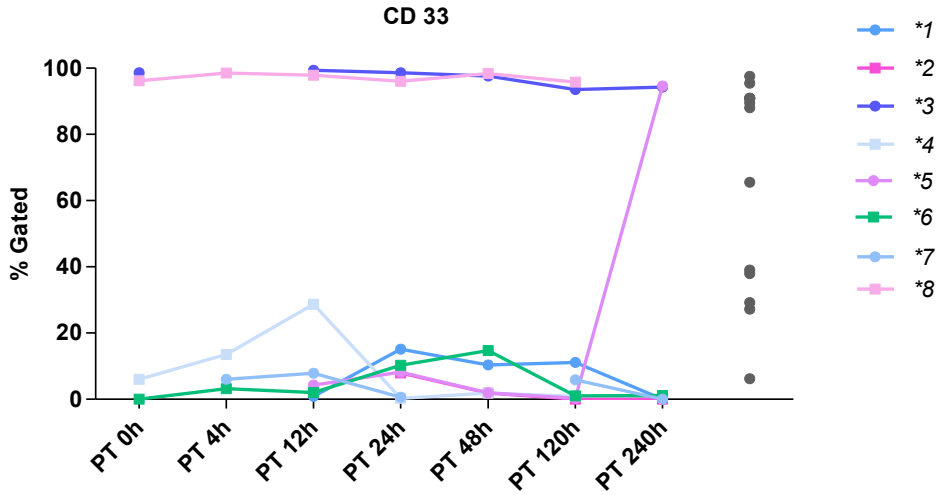

Abbildung27: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Für CD 33 lassen sich zwei Gruppierungen erkennen. Zum einen gibt es die Patienten *3, *8 (und *5 zur Zeit 240h), die oberhalb von 90% liegen. Zum anderen finden sich die Polytraumatisierten *1, *2, *4, *6 und *7 in einem Bereich unterhalb von 30%.

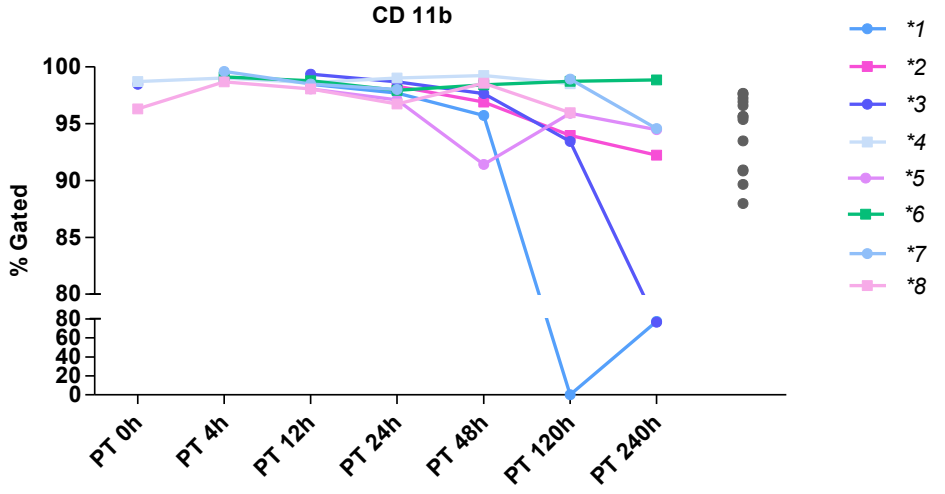

Abbildung28: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Alle Polytraumatisierten sind bei den jeweils erstgemessenen Werten deutlich höher als nach 240h. Der Verlauf ähnelt den Verläufen der Marker CD 16 und CD 66b.

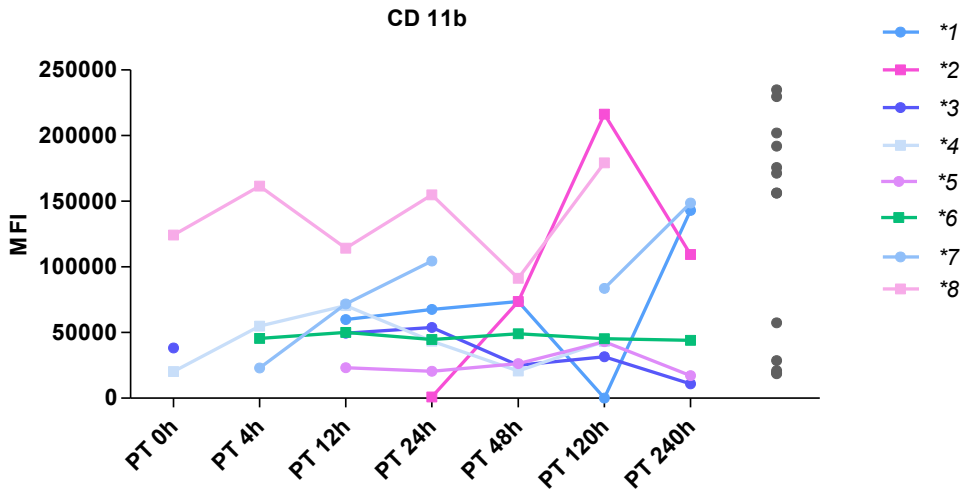

Abbildung29: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Hier verhalten sich die einzelnen Patienten im Verlauf sehr uneinheitlich. Auffallend sind die konstant erhöhten Werte für den Patienten *8. Außerdem zeigt der Patient *2 eine ähnliche Entwicklung wie bei den MFI- CD 66b+- Ergebnissen.

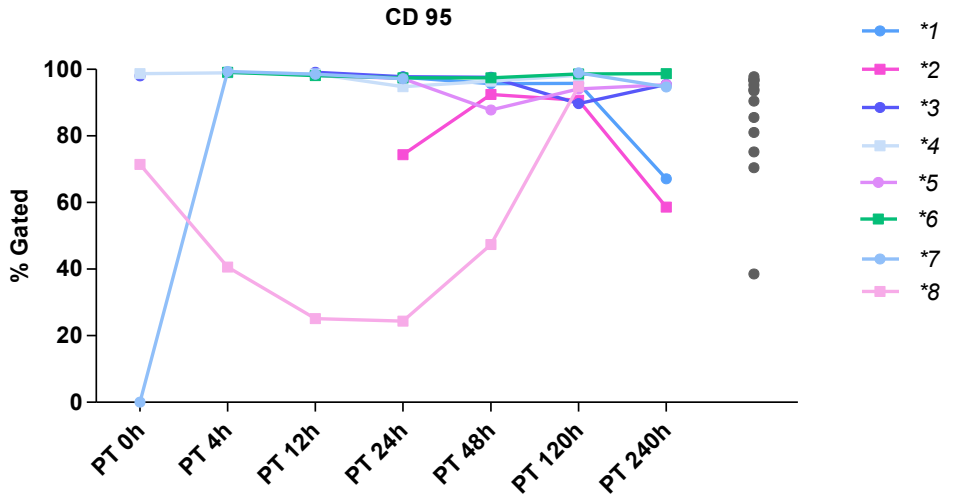

Abbildung30: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Bis auf die Patienten *7 und *8 weisen alle Patienten 240h posttraumatisch niedrigere Ergebnisse auf als initial. Der Patient *8 zeigt einen besonderen Verlauf, da er zunächst

kontinuierlich abfällt und dann ebenso kontinuierlich wieder ansteigt. Zum Zeitpunkt12h liegen alle (mit Ausnahme oben genannten Patienten *8) oberhalb des Wertebereichs der Gesunden.

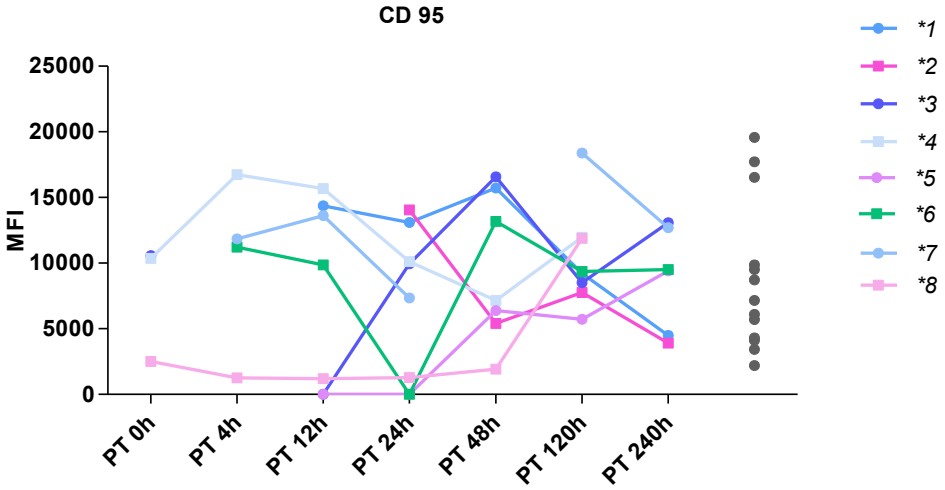

Abbildung31: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Die MFI- Ergebnisse für CD 95+ lassen keine Tendenzen im posttraumatischen Verlauf erkennen.

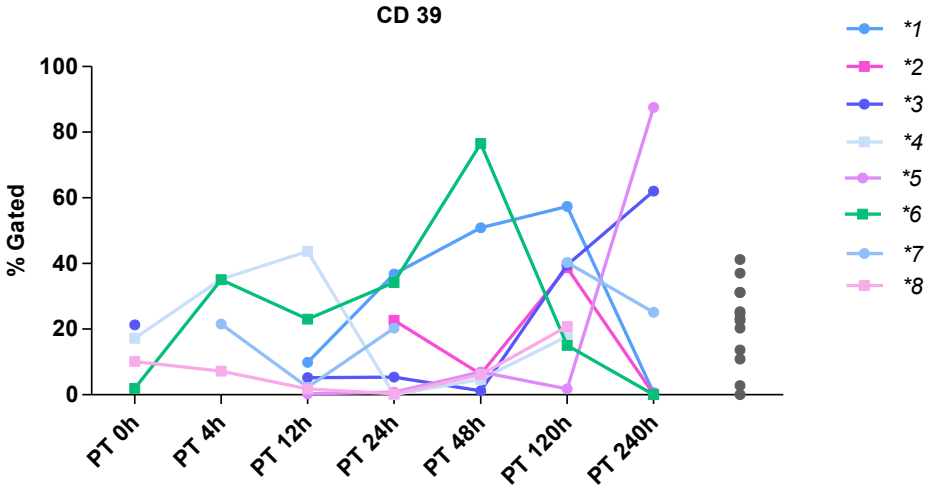

Abbildung32: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Die Patienten *3, *5 und *8 entwickeln sich ähnlich im Verlauf, besonders starke Anstiege zum Endpunkt PT 240h weisen die Patienten *3 und *5 auf. Der Polytraumatisierte *6

zeigt einen erhöhten Wert bei PT 48h und fällt anschließend wieder ab. Auch der Patient *1 zeigt eine Entwicklung wie Patient *6 mit Anstieg und anschließendem Wiederabfall der Marker- Expression.

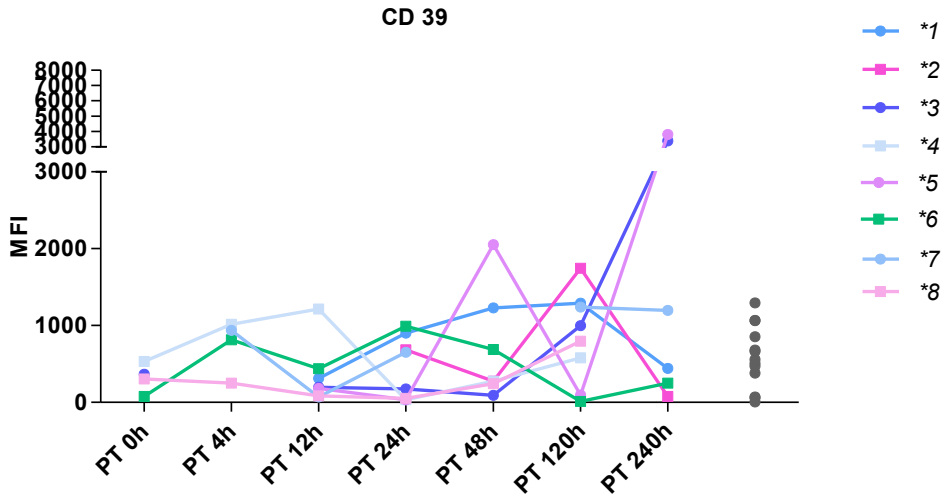

Abbildung33: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Hier sind die Polytraumatisierten *3 und *5 bei PT 240h besonders abweichend. Die meisten Polytraumatisierten gleichen in ihren MFI-Verläufen den %Gated- Ausprägungen und entwickeln sich in ähnlich ab- und aufsteigenden Tendenzen. CD= Cluster of Differentiation.

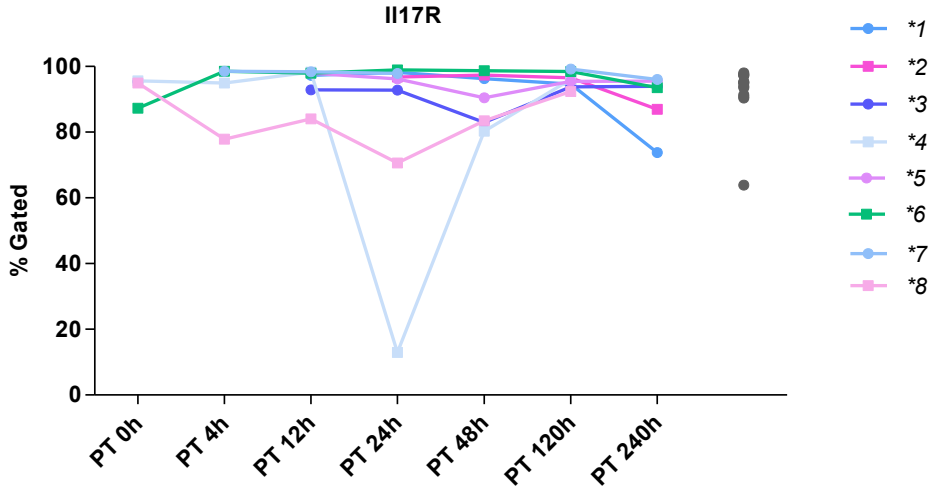

Abbildung34: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. Il= Interleukin. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Der Verlauf der IL- 17R- Expression gestaltet sich ungefähr in dem Bereich, in dem sich auch die Werte der Gesunden befinden. Der Patient *8 liegt insgesamt eher unterhalb der Werte der anderen Polytraumatisierten. Auch die Patienten *3 und *4 weisen an einigen Messzeitpunkten verringerte Werte für IL- 17R auf.

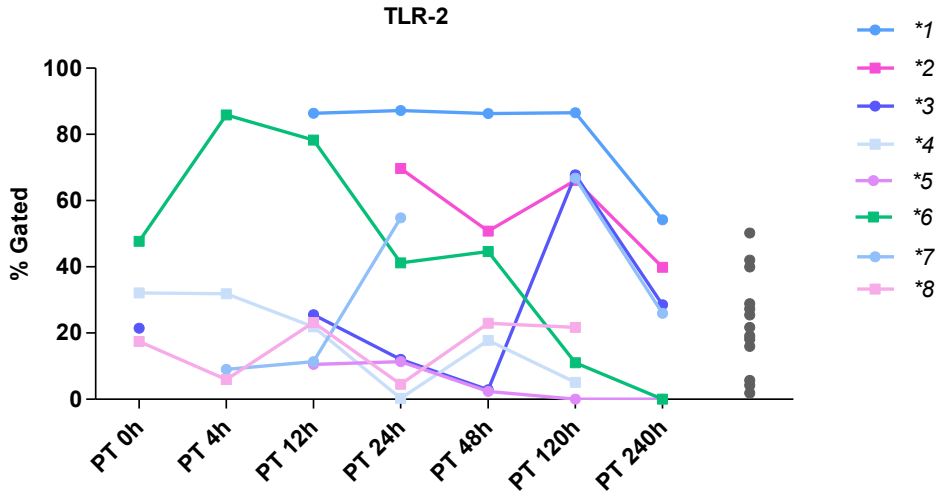

Abbildung35: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. TLR= Toll- like- Rezeptor. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Die Patienten *1, *2, und *6 verhalten sich in ihrem Verlauf ähnlich, da sie zunächst hohe Werte aufweisen, zu ihren Endpunkten hin jedoch abfallen. *4, *5 und *8 sind ebenfalls miteinander vergleichbar. Sie zeigen alle, mit leichten Schwankungen, von Anfang an einen Verlauf im niedrigeren Wertebereich.

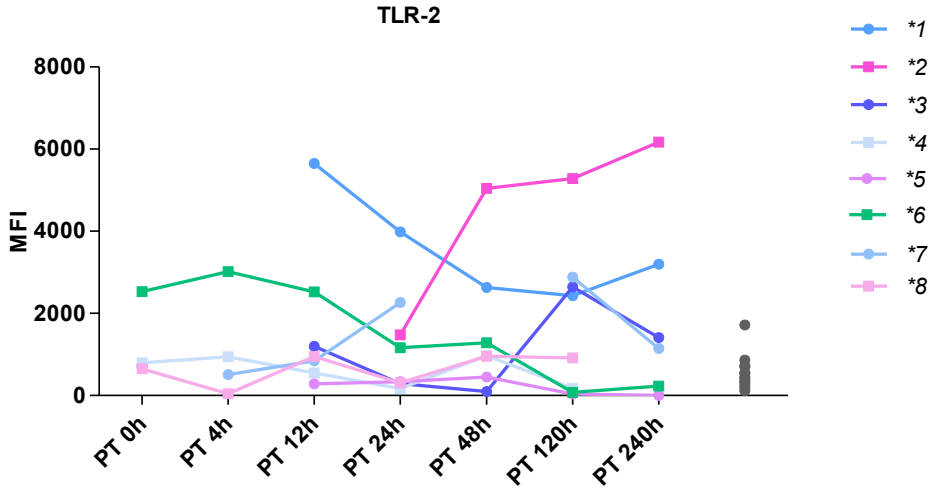

Abbildung36: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. TLR= Toll- like- Rezeptor. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Insgesamt sind auch hier die Patienten *1, *2 und *6 dadurch gekennzeichnet, dass sie in höheren Wertebereichen verlaufen. Im Allgemeinen fallen immer wieder erhöhte Werte im Vergleich zur gesunden Population auf. Der Patient *2 ist hervorstechend durch kontinuierlich ansteigende Werte mit einem Maximum bei PT 240h.

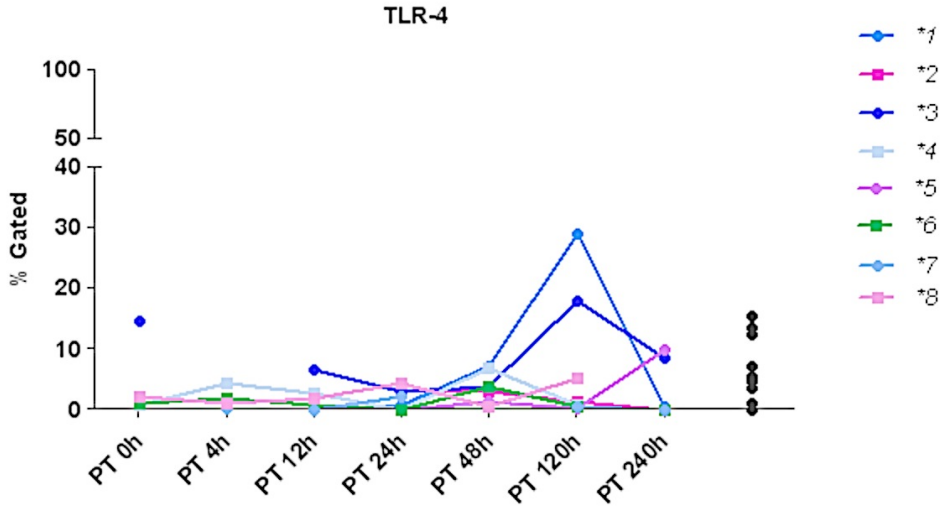

Abbildung37: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. TLR= Toll- like- Rezeptor. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Auffällige Verläufe hinsichtlich der TLR-4- Expression ergeben sich bei den Patienten *1 und *3, da sie beide starke Anstiege bei PT 120h aufzeigen. Alle weiteren Polytraumatisierten erscheinen in einem begrenzten, niedrigwertigen Bereich.

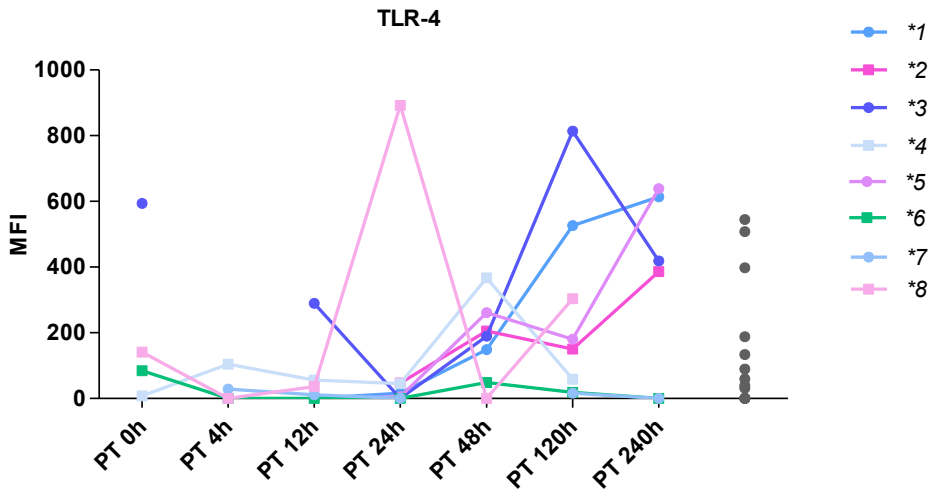

Abbildung38: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. TLR= Toll- like- Rezeptor. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon); MFI= Mean Fluorescence Intensity

Die Patienten *1, *2 und *5 haben die höchsten Ergebnisse an ihren jeweiligen Endpunkten. Hervorgehoben werden kann der stark erhöhte Wert bei PT 24h für den Patienten *8. Auch der Polytraumatisierte *3 zeigt einen auffälligen Wert (PT 120h).

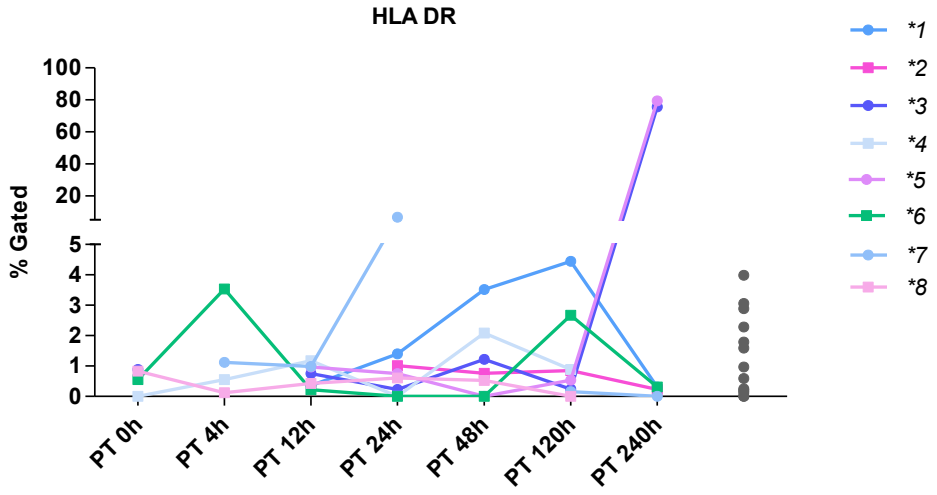

Abbildung39: CD- Marker- Verlauf der Polytrauma (PT)- Patienten *1 bis *8. Die graue Population ganz rechts stellt den gesunden Vergleich dar. Die Verwendung von Quadraten oder Kreisen dient lediglich der Übersichtlichkeit. CD= Cluster of Differentiation. HLA= Human Leukocyte Antigen. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Mit Ausnahme von zwei stark erhöhten Werten bei PT 240h für die Patienten *3 und *5 ist das Diagramm weitestgehend unauffällig.

3.3.1. Scoring- Ergebnisse der PT- Patienten

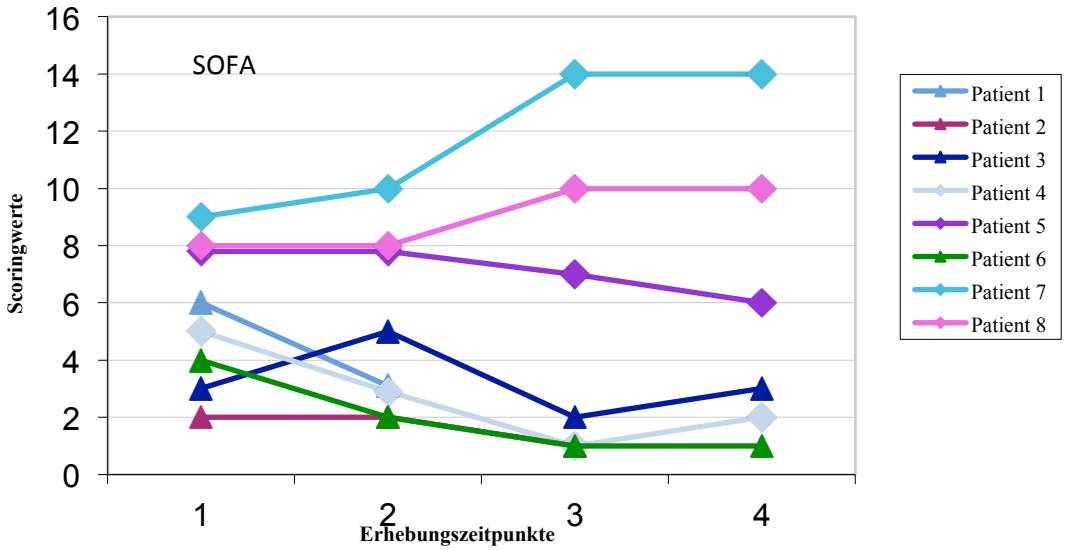

Abbildung40: Darstellung der SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)- Score- Werte der Polytrauma (PT)- Patienten (*1- *8) im Verlauf zu den Erhebungszeitpunkten 1(PT 24h), 2(PT 48h), 3(PT 120h) und 4(PT 240h) zur Morbiditätsabschätzung; Je höher der Wert, desto schlechter die Organfunktion und damit der Zustand des Patienten. Rauten stellen die Patienten dar, die im Verlauf eine Sepsis entwickeln. Dreiecke kennzeichnen diejenigen ohne Sepsis. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Bei Betrachtung der SOFA- Ergebnisse lassen sich zwei Gruppen voneinander abgrenzen. Die höher liegende Gruppierung bilden die Patienten *5, *7 und *8. Hinsichtlich ihrer Endwerte entwickeln sie sich wie folgt: *5 ist abfallend, *7 und *8 gleichbleibend. Die zweite Gruppierung setzt sich aus den übrigen Patienten *1, *2, *3, *4 und *6 zusammen. Die Polytraumatisierten *1 und *6 fallen zu ihren Endpunkten hin ab, Patient *2 ist gleichbleibend, die Personen *3 und *4 fallen zunächst ab, sind zum letztgemessenen Zeitpunkt jedoch wieder ansteigend.

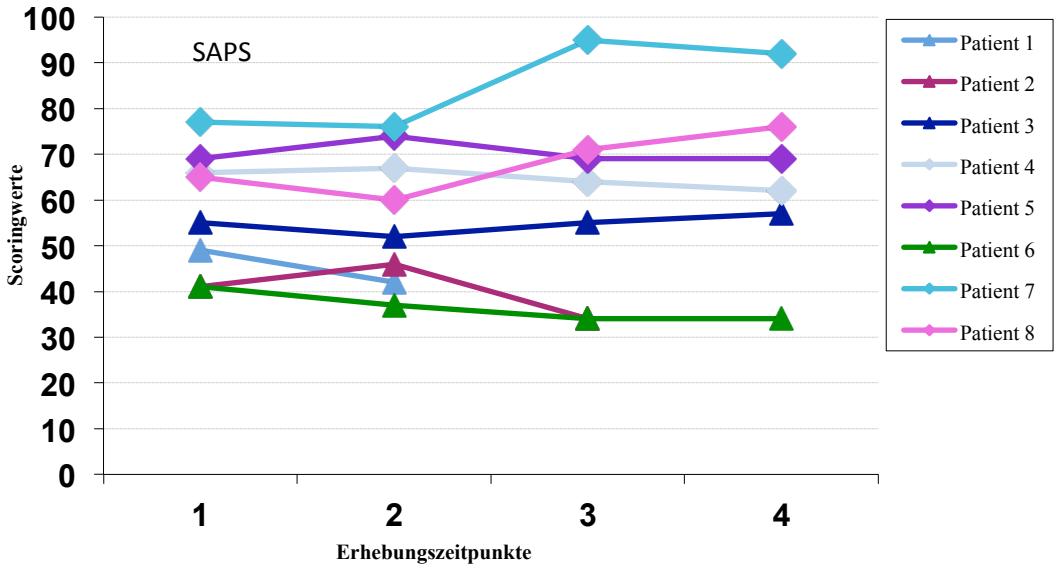

Abbildung41: Darstellung der SAPS3 (Simplified Acute Physiology Score)- Score- Werte der Polytrauma (PT)- Patienten (*1- *8) im Verlauf zu den Erhebungszeitpunkten 1(PT 24h), 2(PT 48h), 3(PT 120h) und 4(PT 240h) zur Abschätzung der Mortalität der Patienten; je höher der ermittelte Wert, desto schlechter die Prognose. Rauten stellen die Patienten dar, die im Verlauf eine Sepsis entwickeln. Dreiecke kennzeichnen diejenigen ohne Sepsis. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Bei Betrachtung der Werte für den Erhebungszeitpunkt 1 zeigt sich, dass auch hier eine Unterteilung in zwei Gruppen möglich ist. Diese entspricht der obigen, jedoch ist der Patient *4 hier eher der höher liegenden Gruppe zuzuordnen.

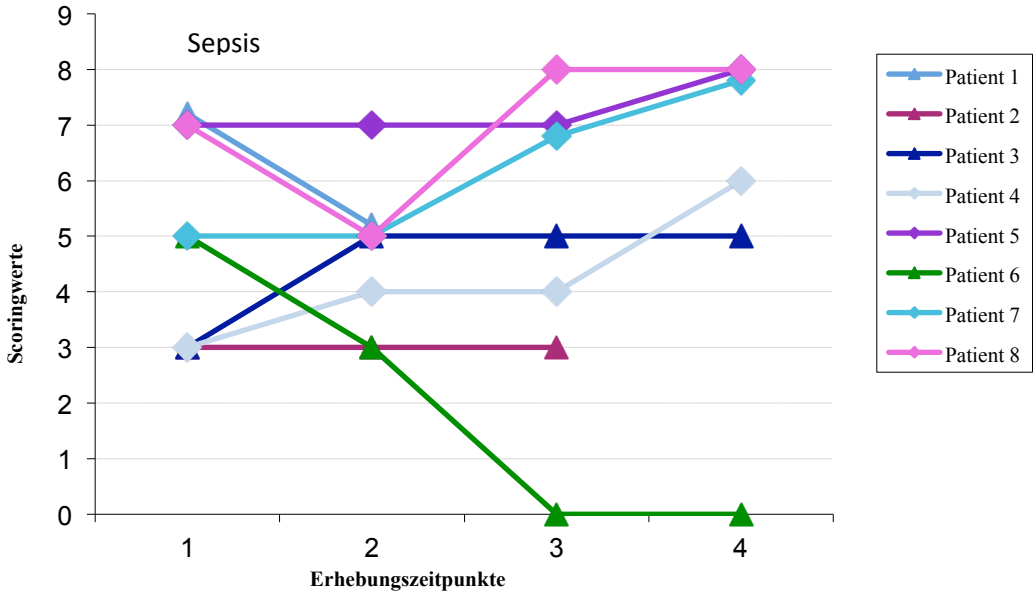

Abbildung42: Darstellung der Sepsis- Score- Werte der Polytrauma (PT)- Patienten (*1- *8) im Verlauf zu den Erhebungszeitpunkten 1(PT 24h), 2(PT 48h), 3(PT 120h) und 4(PT 240h). Rauten stellen die Patienten dar, die im Verlauf eine Sepsis entwickeln. Dreiecke kennzeichnen diejenigen ohne Sepsis. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon).

Für die Polytraumatisierten *1, *2, *3 und *6, die im SOFA und im SAPS 3 niedrigere Werte aufweisen, zeigt sich Folgendes:

Der Patient *1 wird nur zu zwei Zeitpunkten miteinbezogen, da er anschließend von der Intensivstation verlegt wurde. Er befindet sich zunächst im SIRS Schock, dann in schwerem SIRS. Die Patienten *2 und *3 sind zunächst beide im SIRS. Während sich *3 zu einem schweren SIRS im Folgenden weiterentwickelt, bleibt *2 weiterhin konstant. Der Polytraumatisierte *6 wird mit schwerer SIRS aufgenommen und bessert sich stetig, sodass er erst in ein SIRS übergeht und dann schließlich einen Score- Wert von 0 aufweist.

Die Patienten *4, *5, *7 und *8 entwickeln sich bei Betrachtung des Sepsis- Scores wie untenstehend:

Am ersten Messzeitpunkt ist der Patient *4 im SIRS. Anschließend geht er in eine Sepsis und schließlich in eine schwere Sepsis über. Der Polytraumatisierte *5 entwickelt, ausgehend von einem intialen SIRS Schock, einen septischen Schock. Sowohl der Patient *7, als auch der Patient *8 sind erst in schwerem SIRS beziehungsweise im SIRS- Schock und entwickeln dann ebenfalls einen septischen Schock.

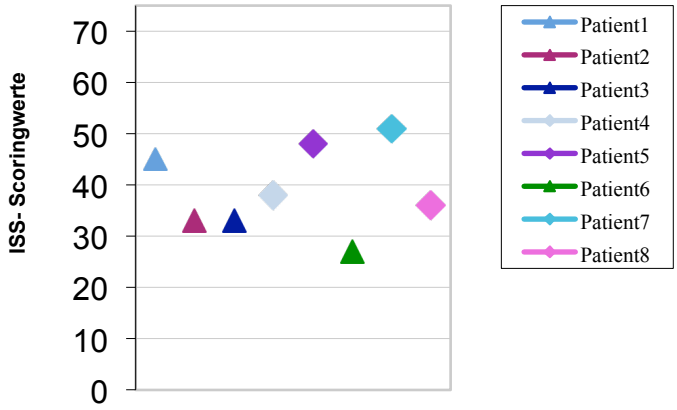

Abbildung43: Darstellung der ISS (Injury Severity Score)- Score- Werte der Polytrauma (PT)- Patienten (*1- *8). Rauten stellen die Patienten dar, die im Verlauf eine Sepsis entwickeln. Dreiecke kennzeichnen diejenigen ohne Sepsis. Jeder Patient ist mit einer eigenen Farbe gekennzeichnet (siehe Legende rechts davon). Für jeden Patient wurde einmalig ein Wert erhoben. Zur Übersicht wurden die Patienten nebeneinander dargestellt (x- Achse).

Nach dem ISS ergeben sich für die Polytraumatisierten Werte zwischen 27 und 51. Den geringsten Wert und damit gemäß ISS der am wenigsten schwer Verletzte stellt Patient *6 mit einem Score- Ergebnis von 27 dar. In ansteigender Reihenfolge schließen sich die Patienten *2 und *3 (jeweils 33), *8 (36), *4 (38), *1 (45). *5 (48) und *7 (51) an.

4. Diskussion

4.1. inhaltliche Analyse

4.1.1. Auswertung der signifikanten Unterschiede zwischen „gesund“ und „krank“/ der CD- Marker- Profile

Zur Beantwortung der Frage nach einem spezifischen Expressionsmuster und damit einem charakteristischen CD- Marker- Profil innerhalb einer Krankheitsgruppe werden nun die in Teil 3.1 dargestellten, signifikanten Ergebnisse der einzelnen Erkrankungsgruppen diskutiert:

HLH- Gruppe

Die HLH- Gruppe zeigt insgesamt zehn signifikante Unterschiede im Mann- Whitney- U-Test bei dem Vergleich mit dem gesunden Probandenkollektiv. Einer dieser Unterschiede ist dabei höchst signifikant (Il- 17R (% Gated)). Zwei Werte sind als hoch signifikant zu beschreiben: CD 16+ (MFI) und HLA- DR (% Gated). Die übrigen Testergebnisse für CD 16 (% Gated), CD 66b (%Gated), TLR- 2 (% Gated), CD 88+ (MFI), CD 64+ (MFI), CD 11b+ (MFI) und CD 95+ (MFI) sind signifikant.

CD 16

Der Marker CD 16 ist auf der Oberfläche von ruhenden und aktivierten PMN zu finden. Bei Aktivierung der PMN durch verschiedenste Stimuli (G- CSF, Il- 6 und weitere) sinkt die CD 16- Expression vorerst rapide ab [52]. Es werden Sauerstoffradikale und Granula abgegeben. Zu gleicher Zeit wird der lösliche Marker sCD 16 freigesetzt. In der Studie von Fleit et al. konnten erhöhte Konzentrationen an sCD 16 unter anderem im Serum, in der bronchoalveolären Lavage oder in der Synovia von Patienten in Inflammationssituation nachgewiesen werden [21].Außerdem ist eine verringerte Expression von CD 16 und ein erhöhtes Vorkommen des proteolytischen Spaltprodukts sCD 16 mit der Apoptose von PMN assoziiert. Beispielsweise scheinen in Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis oder dem Sjörgen Syndrom durch die Bindung von Autoantikörpern an sCD 16 und dem damit verringerten Vorkommen dieses Spaltprodukts die Apoptosevorgänge in lokalen Entzündungsgebieten verzögert zu sein und damit mitverantwortlich für das Fortbestehen der Inflammation zu sein [17].

Hier sind die Ergebnisse der CD 16- Prozentwerte der HLH- Patienten mit zwei Ausnahmen unterhalb des Medianwerts des gesunden Vergleichs zu finden. Fünf der Werte sind sogar unterhalb der Grenzen des Wertebereichs der Gesunden liegend. Damit haben die HLH- Patienten also erniedrigte Ergebnisse für CD 16. Auch die MFI- Ergebnisse sind entweder innerhalb oder unterhalb des Bereichs der gesunden Vergleichswerte. Im statistischen Test können diese Unterschiede unterstrichen werden durch einen signifikanten p- Wert von 0,012 für die CD 16- Prozentwerte und durch einen hoch signifikanten p- Wert für die MFI- Ergebnisse mit p= 0,002.

Eine Aktivierung der PMN spiegelt sich bei den an HLH- Erkrankten wider und kann anhand des Markers erkenntlich gemacht werden. Durch signifikante Unterschiede sind die HLH- Gruppe und die gesunde Vergleichsgruppe voneinander gut unterscheidbar.

CD 66b

CD 66b, oder auch CEACAM- 8 genannt, scheint eine regulierende Funktion auf CD 11b/ CD 18 zu haben. Er führt zur Aktivierung dieses Integrin- Komplexes und zur gesteigerten Adhäsionsfähigkeit von Neutrophilen an Endothelzellen.. Damit besteht eine wesentliche Aufgabe dieses Markers darin, die Adhäsion von Leukozyten und damit die Rekrutierung ins Entzündungsgewebe voranzutreiben. Es wird bei Stimulation aus intrazellulären Speichern freigesetzt und gelangt an die Zelloberfläche der PMN [72]. Die erhöhten Werte für CD 66b sind also ein Zeichen für die Aktivierung der Zellen, weshalb er auch als PMN- Aktivierungsmarker bezeichnet werden kann [88]. Hier ergibt sich für die % Gated- Ergebnisse der an HLH- Erkrankten ein p- Wert von 0,044 und bestätigt damit signifikant erniedrigte CD 66b- Prozentwerte der HLH- Gruppe im Vergleich mit den gesunden Probanden. Dies sind überraschende Resultate. Die MFI- Ergebnisse zeigen keine relevanten Unterschiede. Dies ist insofern ungewöhnlich, als das durch das konstitutive Vorkommen von CD 66b und das erhöhte Auftreten bei Induktion eigentlich damit gerechnet werden müsste, dass die CD 66b- MFI- Werte ansteigen und einen Unterschied zum gesunden Vergleich darstellen. Im Ergebnisteil fiel auf, dass gerade die beiden Nichttherapierten der HLH- Gruppe Prozentwerte unterhalb des Medianwertes aufweisen. Gerade bei diesen würde man aber eher mit erhöhten Ergebnissen rechnen, da in der Hyperinflammationssituation der HLH ohne therapeutisches Entgegenwirken tendenziell noch höhere Ergebnisse dieses Aktivierungsmarkers gemessen werden müssten.

Il- 17RA

Dieser Oberflächenmarker ist, im Komplex mit einem weiteren Rezeptor derselben Familie (z. B. Il- 17RC oder Il- 17RB), der wichtigste Bindungspartner für die Familie der Il- 17-Zytokine. Während Il- 17 nur auf ausgewählten Zellen exprimiert wird und damit streng reguliert werden kann, ist Il- 17RA auf nahezu allen Zellen und Geweben ubiquitär vorhanden [43]. Bei Bindung des Liganden werden Signalwege über NFκB und MAP-Kinasen (mitogen- activated- protein- Kinasen) aktiviert, die zur Folge haben, dass proinflammatorische Mediatoren ausgeschüttet werden. Diese sorgen dafür, dass eine Inflammationsreaktion im betroffenen Gewebe in Gang gesetzt wird und unter anderem Neutrophile rekrutiert werden. Die proinflammatorischen Mediatoren sind Chemokine, anti- mikrobielle Peptide (z.B. Defensine) und Matrix- Metalloproteinasen [75,11]. Mäusen, welchen Il- 17RA fehlte, waren zwar in bestimmtem Maße vor Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis, der multiplen Sklerose, den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und Asthma geschützt, gleichzeitig wiesen sie aber auch eine Anfälligkeit für Infektionen auf [11].

Die HLH- Patienten zeigen deutlich veränderte Werte. Bis auf insgesamt drei Überschneidungen liegen die Gesunden mit ihren Ergebnissen oberhalb der an HLH-Erkrankten. Die HLH- Patienten haben also niedrigere Werte für Il- 17RA. Mit p= 0,000 ist das Ergebnis des Mann- Whitney- U- Tests für die Prozentwerte von Il- 17RA höchst signifikant. Die beiden zum Zeitpunkt der Messungen nicht therapierten Patienten liegen unterhalb des Medianwertes und gehören damit zu den besonders niedrigen Werten für Il-17RA.

Bei vorliegendem Hyperinflammationszustand aufgrund von HLH ist hier Il- 17RA nur noch sehr gering auf der Oberfläche der Neutrophilen nachweisbar. Unklar ist, ob sich dieses verringerte Vorkommen im Zuge der HLH- Erkrankung entwickelte (beispielsweise aufgrund einer erschöpften Immunlage) oder möglicherweise Bestandteil des vorherigen körperlichen Zustandes war und damit u.a. durch erhöhte Infektionsanfälligkeit zum HLH-Ausbruch beigetragen hat.

TLR- 2

Die Familie der TLR, welche zu den PRR‘s zählen, erkennen verschiedene Pathogene und potentiell schädliche Moleküle, reagieren auf diese mit Aktivierung diverser

Signalkaskaden und tragen so zu einer adäquaten Immunantwort bei. Die hier untersuchten Marker TLR- 2 und TLR- 4 sind in ruhendem Zustand auf PMN nur gering detektierbar.

Mit einem p- Wert von 0,014 weist der Mann- Whitney- U- Test einen signifikanten Unterschied zwischen HLH- Gruppe und gesunder Vergleichspopulation auf. Die HLH- Erkrankten haben erniedrigte Prozentwerte für TLR- 2. Die beiden Nichttherapierten liegen dabei eher im unteren Bereich der Ergebnisse. Während der Zusammenhang zwischen HLH- Erkrankung und TLR- Expression derzeit noch kaum erforscht ist, gibt es einige Studien zu septischen Patienten und deren TLR- Oberflächenexpression: Martins et al. untersuchten 41 Patienten mit Sepsis, schwerer Sepsis oder septischem Schock und konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen den Erkrankten und der Kontrollgruppe finden. Bei Auftrennung der Patienten in die Schweregrade des septischen Zustandes konnte jedoch ein verringertes Vorkommen von TLR- 2 bei Patienten im septischen Schock im Vergleich mit den anderen drei Gruppen beobachtet werden [48]. Härter et al. zeigten im Gegensatz dazu einen Anstieg an TLR- 2 und TLR- 4- Expression auf PMN und Monozyten bei Beginn einer Sepsis [29]. Auch bei neonataler Sepsis konnten initial stark erhöhte TLR- 2- Werte gemessen werden, die innerhalb der ersten Woche jedoch wieder absanken und keine relevanten Unterschiede zu gesunden Vergleichswerten mehr darstellten. In derselben Studie konnte für die TLR- 2- Expression auf Monozyten eine konstant erhöhte Expression nachgewiesen werden, die auch im Verlauf nicht absank [82]. Bei einer Studie mit Trauma- Patienten von Paterson et al. konnten drei weitere Erkenntnisse bezüglich der TLR- Expression hinzugewonnen werden: 1.) durch ein Trauma- Ereignis erhöht sich die Reaktivität und damit die zelluläre Antwort von TLR- 2 (gemessen anhand der TLR- 2- induzierten Produktion verschiedener Zytokine), 2.) zellulär daran beteiligte Komponenten sind vor allem Monozyten und dendritische Zellen, 3.) Änderungen der Oberflächenexpression stehen nicht im Zusammenhang mit der dort gemessenen Reaktivität nach Trauma [59]. Diese Erkenntnisse bedeuten hier, dass zum einen die Messung der TLR- Expression auf Monozyten oder dendritischen Zellen möglicherweise sinnvoller ist als die Messung auf PMN und, dass ein Abfall oder ein Anstieg der Expression nicht mit der zellulären Aktivität dieser Rezeptoren korrelierend sein müssen. Die oben genannten Studien mit Messungen der initialen Werte von TLR- 2 direkt nach Eintritt einer Sepsis spiegeln höchstwahrscheinlich die zu der Zeit vorliegende hyperinflammatorische Situation wider. Dementsprechend wäre logisch, wenn die HLH- Patienten als Patienten in

hyperinflammatorischer Situation ebenfalls erhöhte TLR- 2- Werte aufwiesen. Hier ist dies überaschenderweise nicht der Fall.

HLA- DR

HLA- DR wird konstitutiv auf APC exprimiert. Auf PMN findet sich dieses Oberflächenmolekül hingegen nur dann, wenn eine Induktion stattfindet. Ruhende PMN haben einen intrazellulären Speicher an HLA- DR- Molekülen, den sie bei Interaktion mit Zellen der lymphoiden Reihe ausschütten können und so HLA- DR an ihre Zelloberfläche bringen können. Dies kann sehr schnell innerhalb weniger Minuten Zellkontakt stattfinden. Eine Neusynthese ist ebenfalls möglich, hängt aber vom Aktivierungsgrad der PMN ab [80].

Die Auswertung ergibt, dass sich der gesunde Wertebereich in sehr viel engeren Grenzen als der der HLH- Gruppe befindet. Die HLH- Erkrankten zeigen im Vergleich sehr viel höhere Werte für HLA- DR an als die gesunde Probandengruppe. Die Nichttherapierten liegen oberhalb des Medianwertes dieser Patientengruppe. Mit p= 0,001 ist dieses Resultat hoch signifikant. Es scheint, als würden durch die Erkrankung PMN vermehrt induziert, die dann HLA- DR an ihre Oberfläche befördern. Venet et al. führten eine Studie zu Verbrennungsopfern durch, die ergab, dass der auf Monozyten exprimierte HLA- DR bei schweren Verbrennungen in geringerem Maße nachweisbar ist und, dass die anhaltende Verringerung assoziiert werden kann mit der Mortalität und septischen Komplikationen [81]. Auch bei Cheron et. al wurde eine reduzierte HLA- DR –Expression in Folge eines Trauma- Geschehens gemessen, die anhaltend war, wenn sich im Verlauf septische Komplikationen ergaben. Verringertes HLA- DR wird damit mit dem Stadium der Hypoinflammation im Verlauf eines Traumas in Verbindung gebracht [13]. Da es derzeit kaum Studien zur Expression von HLA- DR auf PMN gibt, kann man nur von diesen die Monozyten- betreffenden Ergebnissen ausgehen. Die Erhöhung der HLA- DR- Expression gerade bei der Patientengruppe mit HLH- Erkrankung würde zur Theorie passen, dass die Expression dieses Markers einen Hinweis auf den aktuellen Inflammationsgrad darstellt und durch die hier erhöhten Messergebnisse deren Hyperinflammation signalisiert. Dazu würde auch passen, dass die beiden Nichttherapierten HLH- Patienten zu den höheren Werten der hier gemessenen Ergebnisse gehören.

CD 88

CD 88 wird auch als C5aR bezeichnet und spielt eine wichtige Rolle als Rezeptor des Komplementfaktors C5a. Bei Komplementaktivierung beispielsweise durch Infektionen/ Sepsis kommt es zu einer Aktivierung der Komplementkaskade. Der Faktor C5a wird infolgedessen freigesetzt und kann sich an seinen Rezeptor binden. Der so gebildete Komplex wird internalisiert und die CD 88- Expression sinkt rapide ab [64]. Hier bestehen mit p= 0,037 signifikant erniedrigte MFI- Werte verglichen mit den gesunden Personen. Damit gleichen sie in ihrer Tendenz den Ergebnissen der Sepsis- und der Polytrauma-Gruppe. Auch diese Gruppen weisen erniedrigte CD 88- Werte auf (siehe unten). Dieses Resultat ist passend zur gesteigerten Inflammationssituation der HLH- Gruppe.

CD 64

Als Infektions- und Sepsis- Marker ist CD 64 erhöht bei Patienten im septischen Schock. Qureshi et al. wiesen in ihrer Untersuchung darauf hin, dass erhöhte %Gated- aber auch erhöhte MFI- Werte bei Patienten mit SIRS auftreten, die umso höher sind, wenn zusätzlich eine Sepsis besteht [63]. Direkt nach Eintreten des Schockzustandes kann eine Erhöhung der CD 64- Werte vermerkt werden, die im Laufe der Zeit langsam wieder abzusinken scheint [6]. Der Abfall könnte dadurch bedingt sein, dass bei anhaltender Infekt- und Schocksituation sich immer mehr eine Situation einer unzureichenden Immunabwehr (Hypoinflammation) einstellt. Die HLH- Patienten haben in der Statistik ein signifikantes Ergebnis beim Vergleich der Expression von CD 64- Werten der gesunden Vergleichspopulation und der Werte der an HLH- Erkrankten (p= 0,022). Die HLH-Patienten weisen höhere Werte für CD 64 auf und zeigen damit ein Bild, das dem einer Infektion/ Sepsis entsprechen würde. Dazu passend ist die Tatsache, dass die beiden sicher Nichttherapierten dieser Gruppe im Bereich der besonders hohen Ergebniswerte liegen.

CD 11b

Als Adhäsions- und Migrationsfaktor für Leukozyten wird CD 11b bei Infektionen und traumatischen Ereignissen hochreguliert [67]. In Kombination mit CD 64 ist CD 11b daher ein nützlicher Marker um frühzeitig beispielsweise neonatale Infektionen diagnostizieren zu können [25].

Die HLH- Patienten haben bezüglich ihrer CD 11b- Expression signifikant verringerte Ergebnisse im Vergleich mit Gesunden. Der p- Wert beträgt 0,010. Vor allem bei den

beiden an HLH- Erkrankten, die keine Therapie erhielten, befinden sich die Ergebnisse im Bereich der niedrigeren CD 11b- Werte. Martins et al. wiesen bei Untersuchung von septischen Patienten keine signifikanten Unterschiede in der Expression von Patienten mit Sepsis, schwerer Sepsis oder septischen Schock im Vergleich mit gesunden Freiwilligen nach [48]. Zu erwarten wäre, dass CD 11b bei HLH erhöhte Werte aufzeigt. Es besteht ein Speicherpool an CD 11b in exprimierenden Zellen der bei Aktivierung dieser sehr schnell entleert werden kann und so die Expression an der Oberfläche erhöht. Eine Erklärung für die hier erniedrigten Werte wäre die, dass durch das anhaltende Inflammationsgeschehen alle Speicher entleert sind und kaum noch CD 11b zur Verfügung gestellt werden kann.

CD 95

CD 95 (= Fas; Apo- 1) ist ein wichtiger Bestandteil des Apoptosemechanismus von PMN. Bei Bindung eines Liganden, FasL, wird über eine Signalkaskade der extrinsische Apoptoseweg initiiert. Damit kommt dem Fas/ FasL- Komplex eine entscheidende Rolle im Regulationsapparat des Immunsystems zu. Das Fas- Molekül kann als Oberflächenrezeptor vorliegen oder aber als lösliche Proteinform „sFas“, das durch alternatives Splicing oder proteolytische Spaltung der membrangebundenen Form entsteht. Es besteht die Theorie, dass sFas Zellen vor der Fas- induzierten Apoptose beschützen kann, indem es FasL bindet und so für eine Bindung mit dem Apoptose- induzierenden Rezeptor bewahrt [12]. Nach Paunel- Görgülü et al. stieg die sFas- Konzentration bei Trauma- Patienten mit septischem Verlauf im Vergleich mit einer gesunden Kontrolle (an den Tagen 1, 5 und 9 posttraumatisch) und im Vergleich mit Trauma- Patienten ohne septische Komplikationen (an den Tagen 5 und 9 posttraumatisch) signifikant an. In dieser Studie konnte die Theorie unterstützt werden, dass sFas durch seine anti- apoptotische Wirkung und das dadurch verlängerte Überleben der PMN eine weiterlaufende Inflammation unterstützt und damit eine Sepsis wahrscheinlicher werden lässt. Außerdem konnte eine Korrelation zwischen Prognose und sFas- Konzentration hergestellt werden, was sFAs als eventuellen Sepsis- Prognose- Marker in Betracht ziehen lässt [60]. Hier ist für die HLH- Patienten ein signifikanter Unterschied zum gesunden Vergleichskollektiv ($p= 0{,}004$; $U= 57$) zu errechnen. Die HLH- Patienten weisen höhere Werte für CD 95 auf als gesunde Personen. Normalerweise würde man nun aufgrund oben genannter Studie davon ausgehen, dass im Hyperinflammationszustand der HLH- Patienten sFas erhöht ist. Dadurch müssten vermehrt Fas- Rezeptoren ungebunden vorliegen, die Expression müsste bei FACS- Messung erhöht sein, was hier der Fall ist. Möglicherweise werden aber auch

vermehrt CD 95 an die Oberfläche gebracht, um auf die ungebundenen Rezeptorstellen im Sinne eines positiven Feedbacks zu reagieren. Bei De Freitas et al. konnte bei Patienten mit schwerer Sepsis erhöhte Werte an Fas im Vergleich zu Sepsis- Patienten und gesunden Freiwilligen ermittelt werden. Die Werte waren höher bei denjenigen, die im Verlauf verstarben [16].

LCH- Gruppe

Mittels des Mann- Whitney- U- Tests lassen sich für die LCH- Erkrankten ein signifikanter (CD 39 (% Gated)) und zwei höchst signifikante Unterschiede feststellen: CD 33+/ CD 66b- (MFI) und CD 33-/ CD 66b+ (MFI).

CD 39

CD 39, auch als NTPDase- 1 bezeichnet, wandelt ATP bzw. ADP in AMP um. Die Hauptaufgabe dieses Oberflächenmarkers ist auf Endothelzellen das von stimulierten Thrombozyten ausgeschüttete ADP umzuwandeln um die Thrombozytenaktivierung und -rekrutierung zu verringern. Es hat einen antithrombotischen, aber auch einen antiinflammatorischen Effekt [62]. Neben der Thrombozytenregulation ist für CD 39 auch ein cardio- und cerebroprotektiver Wert nachgewiesen. Marcus et al. zeigten, dass die lösliche Form dieses Oberflächenmarkers fatalen Arrythmien vorbeugen kann durch die Verringerung von ATP- und Ischämie bedingter Noradrenalin- Freisetzung aus dem Herzen. Außerdem veranschaulichten sie, dass bei Mäusen, welchen CD 39 fehlt, die Folgeerscheinungen nach einem Schlaganfall verbessert werden konnten durch die Gabe von löslichem CD 39 [47]. Mizumoto et al. bewiesen im Mäuseversuch, dass CD 39 durch seine ecto- NTPDase- Aktivität in Langerhans- Zellen protektiv wirkt gegen Kontaktdermatitis. Der Pathomechanismus der Kontaktdermatitis ist hauptsächlich auf Langerhans- Zellen zurückzuführen, die CD 8+-T-Zellen aktivieren. Langerhans- Zell assoziierte CD 39- Expression scheint durch die Hydrolyse von extrazellulären Nukleotiden dieser Aktivierung entgegen zu wirken [51].

Die LCH- Patienten- Gruppe zeigt einen signifikanten Unterschied zum gesunden Kollektiv bei den MFI- Ergebnissen für diesen Marker ($p= 0,024$; $U= 44$). Die an LCH-erkrankten Patienten weisen dabei eine höhere Expression auf. Dies ist eine Besonderheit, die nur bei dieser Patientengruppe auftritt, bei allen anderen Krankheitsgruppen sind keine signifikanten Unterschiede zum gesunden Kollektiv auffällig. CD 39 als antiinflammatorischer und antithrombotischer Marker mit zusätzlicher protektiver

Funktion an Herz und Gehirn scheint lediglich bei den LCH- Patienten hochreguliert zu sein. Die LCH- Erkrankung ist gekennzeichnet durch eine Akkumulation von Zellen, die denen der Langerhans- Zellen ähneln. Diese scheinen vermehrt CD 39 zu exprimieren. Die beiden Nichttherapierten befinden sich mit ihren Ergebnissen unterhalb des Medianwertes der LCH- Gruppe, was bedeuten könnte, dass ohne Therapie weniger CD 39 exprimiert wird als mit.

CD 66b/CD 33

Der Granulozyten- Aktivierungsmarker CD 66b ist bei den LCH- Patienten hinsichtlich seiner Prozentwerte nicht signifikant von den gesunden Probanden zu unterscheiden. Der MFI- Wert CD 66b+ ist ebenfalls etwa in den Grenzen zu finden, in denen auch die Gesunden liegen.

Die Ergebnisse für CD 33+/ CD 66b- sind im Vergleich zur gesunden Probandengruppe jedoch sehr auffällig. 8 der 14 Werte sind im Bereich der niedrigwertigeren Populationswolke der gesunden Personen, alle weiteren hingegen liegen deutlich darunter. Die LCH- Patienten sind also von den Gesunden dadurch zu unterscheiden, dass sie hier sehr viel niedrigere MFI- Ergebnisse haben mit einer höchsten Signifikanz von p= 0,000 (U= 8).

Ähnliches gilt für CD 33-/ CD 66b+ nur gewissermaßen umgekehrt: Die LCH- Patienten sind mit einem p von p= 0,000 und einem U von 1 höchst signifikant zu unterscheiden von dem gesunden Kollektiv. Hier ist es aber so, dass die LCH- Gruppe die höheren Werte aufweist und lediglich einer der LCH- Patienten mit seinem MFI- Ergebnis unterhalb des Maximalwertes der Gesunden liegt. Die Nichttherapierten sind zugehörig zu den Patienten, die besonders erhöhte Werte aufweisen.

Da CD 33 wie oben beschrieben unter anderem ein Marker für myeloische Vorläuferzellen ist und daher unreife PMN ebenfalls positiv sind, sind in gesunden Probanden geringe Level an CD 33+- Zellen als normale Situation anzusehen.

Hier könnte die Erklärung der niedrigeren Werte der LCH- Patienten für CD 33+/ CD 66b- die sein, dass durch die Immunreaktion im Laufe der LCH- Erkrankung Vorläufer- PMN rekrutiert werden und sich in aktivierte reife PMN umwandeln. Dadurch sinkt der Anteil an CD 33+/ CD66b- - Zellen und gleichzeitig erhöhen sich die PMN, die CD 33-/ CD 66b+ sind.

OTS- Gruppe

Die statistischen Berechnungen für OTS- Patienten liefern drei relevante Unterschiede zum gesunden Vergleich. Hoch signifikant sind dabei die Ergebnisse für die Marker CD 64 (% Gated) und TLR- 2 (MFI) und signifikant für den Marker TLR- 2 (% Gated).

CD 64

Wie oben beschrieben wird CD 64 bei Infektionen und bei Sepsis auf PMN vermehrt exprimiert und kann daher als Infektionsmarker bezeichnet werden [84]. Ein Anstieg vollzieht sich innerhalb der ersten Stunden nach Aktivierung der PMN durch proinflammatorische Zytokine. Bei einer Studie zur CD 64- Expression auf PMN bei Sepsis- Patienten konnte eine Korrelation zwischen der Höhe der CD 64- Expression und der Prognose festgestellt werden: Septische Patienten, die im Verlauf überlebten wiesen signifikant erhöhte CD 64- Werte im Vergleich mit gesunden Probanden auf, während diejenigen, die nicht überlebten, CD 64- Werte zeigten, die denen des gesunden Vergleichs ähnelten. Die CD 64 Oberflächenexpressionen der überlebenden Patienten fielen im Laufe des Aufenthaltes langsam wieder ab und waren zum Zeitpunkt der Entlassung signifikant niedriger als bei Aufnahme [15]. Ein ermittelter „CD 64- Index“ wurde auf neonatologischen Intensivstationen erfolgreich dazu verwendet, bakterielle Infektionen mit möglichst geringem Zeitaufwand frühzeitig zu erkennen [34,73].

Bei Untersuchung der CD 64- Expression bei OTS- Patienten fällt auf, dass diese oberhalb der Populationswolke der gesunden Probanden liegen und nur vier Ausreißer der gesunden Gruppe eine Überschneidung mit dem Wertebereich der OTS- Gruppe darstellen. Mit einem p- Wert = 0,006 und einem U= 17 ist dies als hoch signifikanter Unterschied zu bewerten. Die OTS- Patienten zeigen also, bezogen auf ihre CD 64- Ergebnisse ein Bild, das sich deutlich von dem der Gesunden unterscheidet. Mit Anstieg dieses Infektionsmarkers haben die hier typisierten Patienten mit Overtraining- Syndrom, ebenso wie die oben beschriebene HLH- Gruppe, Züge einer infektiösen oder septischen Erkrankung.

TLR- 2

Bei den OTS- Patienten ergibt die Statistik für TLR- 2 einen signifikanten Unterschied zur gesunden Population mit einem Wert für p von 0,019. Die OTS- Patienten weisen deutlich höhere Werte auf als die Gesunden. Auch bei den MFI- Ergebnissen sind die TLR- 2-

Werte höher als die des gesunden Probandenkollektivs (p= 0,003). Für TLR- 4 sind keine signifikanten Unterschiede auswertbar.

Damit zeigen die an OTS erkrankten Patienten erneut eine Situation auf, die auch bei septischen Patienten beobachtet werden kann: Wie oben erwähnt, zeigen gerade Patienten zu Beginn einer Sepsis ebenfalls eine Hochregulation von TLR- 2 (und auch TLR- 4) auf PMN und Monozyten [29].

Durch den differenzierten Vergleich der Sportler- Subgruppe als „gesunde" Gegenüberstellung zu den an OTS- Erkrankten kann man erkennen, dass diese Hochregulation wohl auch für gesunde Sportler zu bestehen scheint, da der Mann-Whitney- U- Test dann keine Signifikanzen liefert. Als normalerweise (fast) nicht auf PMN vorkommende Marker sind die TLR hinsichtlich ihrer Expression auf diesen Zellen noch weitestgehend unerforscht. Auf Monozyten ergeben sich scheinbar abhängig davon, welche Art der körperlichen Betätigung in welchem Ausmaß und von welchem Individuum durchgeführt wird, unterschiedliche Resultate der TLR- Expression [27,78]. Lancaster et al. zeigten 2005, dass bei gesunden Probanden, die sich für anderthalb Stunden sportlich betätigten (bei einer Temperatur von 34°C) direkt danach bzw. auch noch zwei Stunden später relevant erniedrigte TLR- 2-, aber auch TLR- 4- Expressionen auf Monozyten gemessen werden konnten [39]. In einer Studie von Oliveira et al. im Jahr 2010 wiesen gesunde, junge und trainierte männliche Probanden bei der Untersuchung von TLR- 2 und TLR- 4 auf Monozyten nach 1,5- stündigem Fahrrad fahren eine temporär erniedrigte TLR- 4- Expression auf, TLR- 2 blieb unverändert [58]. Faktoren, die für die hier vorliegenden, von der Literatur abweichenden Ergebnisse für TLR- 2 und - 4 mitverantwortlich sein könnten, sind, dass hier statt der monozytären, die PMN-Expression ermittelt wurde und sowohl die gesunden Probanden, als auch die OTS-Patienten regelmäßigen Sport betreiben. Außerdem wurden sie nicht direkt nach einem Trainingsereignis gemessen.

Weitere zwei Unterschiede bei alleiniger Betrachtung der Sportler- Subgruppe im Vergleich mit den OTS- Patienten ergeben sich für die MFI- Werte von CD 33+/ CD 66b- und für CD 11b+. Beide Marker zeigen Ergebnisse für die Sportler- Subgruppe, die signifikant höher sind als die der OTS- Patienten. Dabei ist der berechnete Unterschied der CD 33+/ CD 66b-- Expression gering, während die Abweichung der beiden Gruppen hinsichtlich der CD 11b+- Expression als höchst relevant zu beschreiben ist. Die gesunden

Sportler haben demnach stark erhöhte MFI- CD 11b+- Werte, die bei OTS- Erkrankung nicht vorzuliegen scheinen. In einer Studie zu dieser Thematik wurde das Blut von zehn gut trainierten männlichen Läufern auf die CD 11b- Expression nach sportlicher Belastung untersucht und es wurde eine signifikante Erniedrigung der MFI- Expression nachgewiesen [85]. In einer weiteren Studie unterzog sich eine gesunde Probandengruppe bestehend aus zwanzig gesunden Freiwilligen einem steigernden Training mittels Fahrrad- Ergometrie und es ergaben sich direkt nach Beginn der sportlichen Betätigung bis einige Zeit danach signifikant erhöhte MFI- Werte für CD 11b [61]. Bei der Sportler- Subgruppe, die hier gemessen wurde, handelt es sich bei den CD 11b- Werten eher um Verlaufswerte, da sie nicht direkt nach dem Sport gemessen wurden, trotzdem zeigen sie, ebenso wie letztgenannte Studie erhöhte Werte.

Sepsis- Gruppe

Bei Berechnung des Mann- Whitney- U- Tests zeigen sich für die Sepsis- Patienten drei relevante Unterschiede zum gesunden Kollektiv. Die Werte für CD 88 (MFI) sind signifikant. CD 33+/CD 66b- (MFI) ist hoch signifikant und für CD 33-/ CD 66b+ (MFI) ist der Unterschied mit einem höchst signifikanten Ergebnis noch deutlicher.

CD 88

Septische Patienten haben initial eine verringerte Expression dieses Markers. Der Prozess des anschließenden Wiederanstiegs von CD 88 verläuft nur sehr langsam und CD 88 ist auch einige Tage später noch erniedrigt im Vergleich zur gesunden Probandengruppe [22]. In einer der aktuellsten Studien wurde gezeigt, dass bei Patienten im septischen Schock eine verringerte CD 88- Expression gemessen werden kann, die umso niedriger ist, wenn die Patienten, diesen nicht überlebten. Außerdem wurde bei Untersuchung der Patientenproben entdeckt, dass sich stattdessen zirkulierendes C5aR (= cC5aR) in den Patientenseren nachweisen lässt. Die cC5aR- Konzentrationen waren besonders erhöht bei septischen Patienten mit tödlichem Ausgang und hatten ergo einen prognostischen Wert [77].

Auch hier sind die Werte für CD 88 bei Sepsis- Patienten erniedrigt. Mit einem p- Wert von 0,010 ergibt sich bei der Berechnung ein signifikanter Unterschied zu den Gesunden. Die hier untersuchten Patienten befanden sich fast alle im septischen Schock zum Zeitpunkt der Messung und passen damit zu den Ergebnissen oben genannter Literatur.

Hier stehen keine Verlaufswerte zur Verfügung, daher kann leider nicht weiter auf den oben erwähnten Aspekt des Wiederanstiegs im Laufe der Zeit oder die eventuelle Prognoseabschätzung eingegangen werden.

CD 66b/ CD 33

Bei Patienten mit schwerer Sepsis oder in septischem Schock ist eine signifikant erhöhte Expression an CD 66b im Vergleich mit gesunden Freiwilligen nachweisbar [48].

Hier haben die septischen Patienten bezüglich ihrer CD 33+/ CD 66b- Expression niedrigere Werte als die gesunden Probanden. Mit einem p- Wert = 0,001 ist diese Abweichung höchst signifikant. Ebenfalls hoch signifikant sind die Ergebnisse des Mann-Whitney- U- Tests bezüglich CD 33-/ CD 66b+ (p= 0,004). Die Sepsis- Gruppe unterscheidet sich von der gesunden Gruppe durch deutlich erhöhte Werte.

Die Ergebnisse der Sepsis- Gruppe für CD 33+/ CD 66b- und CD 33-/ CD 66b+ gleichen damit den Ergebnisse der LCH- Patienten: Auch hier sinkt der Anteil der CD 33+/ CD 66b- - Zellen und gleichzeitig erhöhen sich die PMN, die CD 33-/ CD 66b+ sind.

Dies kann, wie bei den LCH- Patienten erwähnt, als Hinweis darauf dienen, dass Vorläufer- PMN rekrutiert werden und sich in aktivierte PMN umwandeln und sich dadurch die Expression von CD 33+ Zellen vermindert, während die CD 66b+- Expression gleichzeitig ansteigt.

Polytrauma- Gruppe (PT24h)

Als letzte der Patientengruppen wird im Folgenden auf Auffälligkeiten der CD- Marker-Expression bei Polytrauma- Patienten eingegangen. Insgesamt lassen sich sieben Signifikanzen im Mann- Whitney- U- Test berechnen. Für CD 33+/ CD 66b- (MFI) ist der Unterschied höchst signifikant zum gesunden Vergleich. Die Marker CD 33-/ CD 66b+ (MFI), CD 16+ (MFI), CD 88+ (MFI), CD 66b (%Gated) und CD 11b (% Gated) zeigen hoch signifikante Unterschiede bzw. der Marker CD 16 (%Gated) einen signifikanten Unterschied.

CD 66b/ CD 33

CD 66b ist bei den PT- Patienten mit einem p- Wert von 0,007 hoch signifikant unterschiedlich zu den gesunden Probandenwerten. Die Polytraumatisierten weisen

deutlich höhere CD 66b- Ergebnisse auf. Da CD 66b, wie oben beschrieben, ein PMN-Aktivierungsmarker ist, spricht dies für eine stattgefundene Stimulation der PMN durch das durchlebte Polytrauma- Geschehen [88].

Bei differenzierter Betrachtung von CD 33+/ CD66b- und CD 33-/ CD 66b+ fällt auf, dass die Ergebnisse der CD33+/ CD66b- - Zellen alle ausnahmslos unterhalb derer des gesunden Vergleichs liegen. Mit dem Mann- Whitney- U- Test ergibt sich ein höchst signifikanter Unterschied mit p= 0,000. Für CD 33-/ CD 66b+- PMN sind hingegen alle Werte innerhalb oder oberhalb des gesunden Wertebereichs zu finden. Der p- Wert beträgt 0,001 und ist somit hoch signifikant. Damit ähneln die Polytrauma- Patienten den vorher besprochenen Gruppen der LCH-, sowie der Sepsis- Patienten hinsichtlich dieser beiden Marker- Ausprägungen.

CD 16

Laut Shih et al. tritt nach vorgefallenem Trauma und dadurch bedingtem Absinken der CD 16 (MFI)- Expression ein erneuter Anstieg von CD 16 eher bei einem Polytrauma ohne anschließende Infektion auf als bei Polytraumata mit darauffolgenden Infektionen [67]. Dies unterstreicht die Annahme, dass Infektionen mit erniedrigten CD 16- Werten einhergehen. Auffallend ist, dass auch in der vorherigen Patientengruppe der an HLH-Erkrankten die CD 16- Ergebnisse in der Tendenz eher niedriger sind als die des gesunden Vergleichs.

Die Gruppe der Polytraumatisierten ist mit ihren %Gated- Ergebnissen für den Marker CD 16 in einer Populationswolke zusammenzufassen, die verglichen mit dem Wertebereich der Gesunden leicht nach oben versetzt erscheint. Vor allem die Patienten, die sich zu diesem Zeitpunkt in einem SIRS- Zustand befanden, weisen besonders erhöhte Werte auf. In der statistischen Messung erhält man einen p- Wert von 0,019, was einem signifikanten Unterschied entspricht. Hinsichtlich der MFI- Ergebnisse ergibt sich ein Wert für p= 0,002 mit U= 8. Dies ist ein hoch signifikanter Testwert. Allerdings sind die MFI- Werte der PT-Patienten nicht wie die %Gated- Werte höher, sondern niedriger als der gesunde Vergleich. Damit kann die oben genannte Literatur durch die hier erworbenen MFI- Ergebnisse der PT- Patienten noch einmal unterstrichen werden. Möglicherweise sind die %Gated- Werte so zu deuten, dass bei Polytrauma- Geschehen zwar durch Aktivierung der Zellen die Expressionsdichte von CD16 auf der Zelloberfläche der PMN verringert wird und u. U. vermehrt sCD16 freigesetzt wird, der Gesamtanteil an CD 16+- Zellen sich jedoch

vermehrt und dementsprechend erhöhte Prozentwerte gemessen werden können. Im Gegensatz dazu sind sowohl die %Gated- als auch die MFI- Werte bei der HLH-Gruppe erniedrigt.

CD 11b

Die Ergebniswolke der PT- Gruppe ist für CD 11b eher nach oben versetzt und enger begrenzt als die gesunde Gruppe. Der p- Wert beträgt 0,001, der U- Wert ist = 7. Damit liegt ein hoch signifikanter Unterschied vor und man kann sagen, dass die PT- Patienten höhere Prozentwerte für CD 11b aufweisen als die gesunden Probanden. Diejenigen mit SIRS haben höhere Werte als die, die sich im septischen Schock befinden.

Bei einer Studie mit Trauma- Patienten über einen Zeitraum von sieben Tagen konnte eine signifikant erhöhte CD 11b- Expression gemessen werden mit der Tendenz eines langsamen Wiederabfallens im Verlauf der sieben Tage. Auffallend war, dass Patienten, welche septische Komplikationen entwickelten signifikant höhere CD 11b- Werte ab dem dritten posttraumatischen Tag hatten verglichen mit denjenigen, die keinen septischen Verlauf zeigten [26]. Henrich et al. zeigten, dass bei polytraumatisierten Patienten aktivierte PMN endotheliale Progenitorzellen schädigen unter anderem über das Oberflächenmolekül CD 11b/ CD 18. Die endothelialen Progenitorzellen sind jedoch daran beteiligt, posttraumatisch Gewebeschäden zu reparieren. Damit ist CD 11b wohl an der verzögerten Wundheilung posttraumatisch beteiligt [30].

CD 88

Zirkulierende C5a- Faktoren binden an ihren Rezeptor CD 88 und werden dann als Komplex internalisiert, wodurch sie diverse Signalkaskaden aktivieren. Bei Sepsis ist dieser Mechanismus überschießend und es kommt als Folge zur gestörten PMN- Funktion. Messbar ist dies anhand von verringerten C5aR- Werten durch die stattgefundene Internalisierung der gebildeten Komplexe. Im Tiermodell ergibt sich eine positive Korrelation zwischen C5aR- Expression und Überleben [28]. Amara et al. beobachteten, dass die CD 88- Expression posttraumatisch zudem negativ korrelierend ist mit dem Schweregrad der Erkrankung [1]. Die MFI- Ergebnisse sind für die untersuchten Polytrauma- Patienten deutlich niedriger als die des gesunden Vergleichs. Diejenigen Polytraumatisierten mit SIRS sind dabei besonders erniedrigt im Vergleich zu denjenigen mit schwerer Sepsis oder septischem Schock. Es zeigt sich ein sehr signifikanter

Unterschied mit einem p- Wert von 0,004 und einem U- Wert von 12. Damit ähneln die PT- Patienten den Sepsis- Patienten. Die verringerte CD 88- Expression spiegelt die Aktivierung von CD 88 mit anschließender Internalisierung wider.

4.1.2. Auswertung des Gesamtgruppenvergleichs

Nach dem Vergleich gesunder Probanden mit Patienten ganz bestimmter Erkrankungen wird im Folgenden kurz darauf eingegangen, inwiefern sich die Krankheitsgruppen untereinander unterscheiden:

Auswertung der signifikanten %Gated- Unterschiede (gemäß Kruskal- Wallis- Test)

Stellt man die HLH- Gruppe und die Polytrauma- Gruppe einander gegenüber, so fällt eine Besonderheit auf: Die Marker CD 16, CD 66b und CD 11b unterscheiden sich signifikant und in gleicher Tendenz zwischen diesen Krankheitsgruppen. Die Ergebnisse der drei Marker sind deutlich höher bei den Polytrauma- Patienten als bei den an HLH- Erkrankten. Schon im gesunden Vergleich (Teil 4.1.1.) konnten relevante Unterschiede mit niedrigeren Werten für CD 16 und CD 66b für die HLH- Gruppe beschrieben werden, ebenso waren die Polytraumatisierten mit allen drei Markern deutlich höher liegend als die Gesunden. Ferner besteht ein möglicher Zusammenhang dieser drei Marker.

Auch die HLA- DR- Ergebnisse sind zwischen der HLH- Gruppe und der PT- Gruppe relevant unterschiedlich. Während sich im gesunden Vergleich für die Polytraumatisierten keine Verschiedenheit hinsichtlich ihrer HLA- DR- Expression ergab, wiesen die HLH- Erkrankten deutlich höhere Werte auf. Genauso sind auch hier die HLH- Patienten signifikant höher als das PT- Patientenkollektiv. Eine weitere Signifikanz besteht zwischen HLH- und Sepsis- Gruppe: die HLH- Erkrankten sind mit höheren Ergebnissen auffallend. Insgesamt lässt sich also sagen, dass die HLH- Patienten nicht nur im Vergleich mit den Gesunden, sondern auch im Kontrast zur Sepsis- und PT- Gruppe höhere HLA- DR- Prozentwerte zeigen.

Der Marker CD 88 lässt eine relevante Unterscheidung zwischen den HLH- Erkrankten und den LCH- Patienten zu. Die HLH- Gruppe ist niedriger hinsichtlich der Ergebniswerte dieses Markers im Vergleich zur Krankheitsgruppe der LCH.

Als letzter signifikanter Unterschied zwischen den Prozentwerten der einzelnen Krankheiten lässt sich TLR- 2 hervorheben: Die HLH- Gruppe liegt in bedeutsam höheren Wertebereichen als die OTS- Gruppe. Unter Miteinbezug der Ergebnisse aus Teil 4.1.1. ergeben sich die höchsten Werte für die HLH- Gruppe, dann den gesunden Vergleich, die niedrigsten für die OTS- Gruppe.

Auswertung der signifikanten MFI- Unterschiede (gemäß Kruskal- Wallis- Test)

Der Gesamtvergleich der MFI- Ergebnisse liefert denselben signifikanten Unterschied zwischen der HLH- und der OTS- Gruppe, der sich auch für die %Gated- Werte für TLR- 2 ergab: TLR- 2 ist relevant höher bei den OTS- Patienten, wenn man diese mit den Gesunden oder den an HLH- Erkrankten vergleicht. So kann dieses Oberflächenantigen als sinnvoller Marker zur Erstellung eines Profils für OTS- Patienten genannt werden.

Die Sepsis-, die Polytrauma- und die HLH- Patienten sind durch eine verringerte MFI-Expression von CD 88 im gesunden Vergleich und im Vergleich mit der LCH- Gruppe gekennzeichnet.

Die CD 33+/ CD 66b- - Expression stellt sich bei den HLH- Patienten als signifikant höher dar beim Vergleich mit den Gruppen der LCH-, der Sepsis- und der Polytrauma- Patienten. Dabei sind die drei letztgenannten Patientenkollektive, wie in Teil 4.1.1. beschrieben, auch bedeutsam erniedrigt bei Gegenüberstellung mit dem gesunden Vergleich.

Die letzte Auffälligkeit im Gesamtgruppenvergleich ist die, welche bei dem Expressionsmuster für den Marker CD 33-/ CD 66b+ zur Geltung kommt. Die HLH-Patienten, aber auch die OTS- Patienten sind signifikant erniedrigt bei der Berechnung des Unterschieds zu den LCH- Patienten. Dabei weisen die an LCH- Erkrankten auch bedeutsam erhöhte Werte im Vergleich mit den Gesunden auf. Man kann also zusammenfassend sagen, dass die LCH- Gruppe mit ihren Werten bezüglich diesen Markers in höheren Bereichen liegt als die Gruppen der OTS-, der HLH- und der gesunden Vergleichs- Personen.

4.1.3. Auswertung der Polytrauma- Verläufe

Für die Betrachtung der diversen Patientengruppen im Einzelnen sowie für die Gegenüberstellung der Patientengruppen im Gesamtvergleich wurde für die Polytrauma-Gruppe der Zeitpunkt 24h nach Trauma- Geschehen ausgewählt. In diesem Abschnitt sollen nun die Polytrauma- Ergebnisse anhand der sechs zusätzlich gemessenen Zeitpunkte in ihrem Verlauf bewertet werden um der Frage nachzugehen, welche Auffälligkeiten und Tendenzen sich bei welchen Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten posttraumatisch ergeben:

CD 16

Es fällt auf, dass die initial gemessene %Gated- Expression für CD 16 im Verlauf der posttraumatischen Zeit größtenteils abnimmt und ein allgemeiner Abfall der CD 16-Expression, besonders zu den jeweiligen Endwerten hin, vermerkt werden kann. Dabei sind drei Patienten an ihren Endpunkten besonders erniedrigt (*1, *3, *5), während bei den anderen nur ein leichtes Absinken erkennbar ist. Ein Polytraumatisierter (*6) sticht hervor, bei dem im Gegensatz dazu ein leichtes Ansteigen des CD 16- Markers beobachtet werden kann. Dieser ist derjenige unter den Polytrauma- Patienten, der bezüglich seiner SOFA und SAPS 3- Score- Werte zur prognostisch besser verlaufenden Gruppe gehört. Zudem weist er mit einem Wert von 27 den geringsten ISS auf. In mehreren Studien zu Traumata und dem Zusammenhang mit dem Marker CD 16 ist ein posttraumatischer Abfall der Expression beschrieben worden [67,4]. Babcock ermittelte eine gleichzeitig bestehende Korrelation mit dem Infektionszustand der Patienten. Dieser besagt, dass Traumatisierte, die Infektionen entwickeln, nochmals in ihrer schon verringerten Expression von CD 16 absinken und dann wieder ansteigen, wenn die Infektion überwunden wurde [4]. Demnach müssten die Patienten *1, *3 und *5, die stärker abfallend sind zu ihren Endwerten hin, Zeichen einer Infektion tragen: Tatsächlich finden sich bei den Patienten *1 und *3 jedoch Zustände eines schweren SIRS und nur bei Patient *5 ein septischer Schock. Auch in der Studie von Wagner et al., in der PMN bei bakteriellen Infektionen in vivo und LPS-exponierte PMN in vitro untersucht wurden, zeigte sich in beiden Szenarien, dass die CD 16- Expression bei Infektion verringert ist [84]. Diese Erkenntnis würde zum Ergebnis des PT- Patienten *6 passen, der nur anfänglich eine SIRS aufweist und sich anschließend rasch wieder davon erholt und gleichzeitig im Vergleich mit den anderen

Polytraumatisierten relativ hohe CD 16- Werte aufweist. Die MFI- Werte sind weniger einheitlich und die PT- Patienten zeigen abwechselndes Ansteigen und Wiederabfallen der CD 16- Expression. Für die Gesamtheit der PT- Gruppe lässt sich kein Muster erkennen, Besonderheiten zwischen den einzelnen Patienten sind ebenfalls nicht ersichtlich.

CD 88

Betrachtet man das Verlaufsdiagramm der Prozentwerte für CD 88 fällt auf, dass die Expression im Laufe der Zeit bei fast allen PT- Patienten zunächst ansteigt und dann wieder abfällt. Infektionssituationen sind mit verringerten CD 88- Werten assoziiert und Studien zu septischen Komplikationen zeigen, wie oben schon erwähnt, dass das Vorkommen von CD 88 umso mehr verringert ist, wenn Patienten einen septischen Schock im Folgenden nicht überleben [77]. Auch hier sind die beiden Patienten,*5, aber vor allem *8, die sich im septischen Schock befanden durch besonders niedrige CD 88- Prozentwerte gekennzeichnet. Der hier beschriebene Wiederabfall der PT- Werte im Verlauf könnte ein Zeichen dafür sein, dass die beiden PT- Patienten im Laufe der Zeit Infektionen und Sepsis erlitten. Ein weiteres Beispiel für oben genannte Literaturergebnisse ist Patient *4, der im Verlauf der posttraumatischen Zeit in eine SIRS und schließlich in eine Sepsis übergeht und ebenso im Verlauf der Ergebnisse für die CD 88- Prozentwerte kontinuierlich absinkt. Anhand der Scoring- Werte und der verfügbaren klinischen Angaben lässt sich nicht klären, weshalb der Polytraumatisierte *1 bei PT 120h einen erhöhten Wert aufzeigt. Der MFI- Verlauf ähnelt dem der Prozentwerte und ergibt keine weiteren Besonderheiten.

CD 64

Vergleicht man die Polytraumatisierten mit den Gesunden ergeben sich für mehrere Zeitpunkte signifikant erhöhte %Gated- Ergebnisse der Polytrauma- Gruppe für CD 64. Als Infektions- und Sepsis- Marker scheint dies ein Zeichen für eine sich im Verlauf entwickelte Infektion der Polytraumatisierten zu sein. Laut Literatur sind die initialen Werte für CD 64 bei Sepsis-Patienten erhöht und sinken im Verlauf der Zeit wieder langsam ab [6]. Passend zu dieser Theorie ist, dass der Patient *5 mit den konstant erhöhten Prozentwerten für CD 64 einer derjenigen unter den Polytraumatisierten ist, der sich die gesamte Zeit über im SIRS Schock und anschließend im septischen Schock befindet. Sinnvoll wäre es daher sicherlich gewesen, gerade diesen PT- Patienten mit erhöhten CD 64- Werten aufgrund des Eintritts in eine Sepsis im Verlauf weiter zu beobachten um den in der Literatur beschriebenen Wiederabfall detektieren zu können,

insbesondere nach welcher Zeit sich dieser darstellt. Der Patient *3, der ab dem Zeitpunkt PT 48h deutlich ansteigt, zeigt bei der Sepsis- Bewertung einen Übergang von SIRS in den Zustand eines schweren SIRS innerhalb diesen Zeitraums. Eine Besonderheit ist bei dem Patienten *7 feststellbar, der sich laut SOFA, sowie SAPS 3 kontinuierlich prognostisch verschlechterte und ab PT 240h in einen septischen Schock überging, im posttraumatischen Verlauf bezüglich seiner %Gated- CD 64- Expression aber erst ansteigt, um dann anschließend rapide wiederabzufallen trotz anhaltender Situation eines septischen Schocks. Besonders verringerte Ergebniswerte dieses Markers bei vorliegendem septischen Schock-Zustand könnten ein Hinweis für eine vorliegende immunparalytische Phase eines Schwerkranken sein [20]. Man kann folglich vermuten, dass der Patient *7 im Laufe der Zeit in eine Immunparalyse übergegangen ist. Auch könnte es einen Zusammenhang zwischen Schweregrad der Verletzung des Polytraumatisierten und CD 88- Entwicklung geben, da sich für diesen Patienten mit 51 der höchste ISS ermitteln lässt. Der MFI- Werte-Verlauf zeigt keine weiteren Auffälligkeiten.

CD 33/ CD 66b

Die Ergebnisse für die Messungen von CD 33+/ CD 66b- sind bis auf eine Ausnahme signifikant erniedrigt beim Vergleich mit den gesunden Probanden, gleichzeitig zeigen die Auswertungen für CD 33-/ CD 66b+ bis auf zwei Zeiten relevant erhöhte Werte hinsichtlich des gesunden Vergleichs. CD 33+ kennzeichnet myeloische Vorläuferzellen und steht damit für unreife, noch nicht ausdifferenzierte PMN [14]. Der Aktivierungsmarker CD 66b ist konstitutiv auf Neutrophilen vorhanden und wird hochreguliert, wenn diese induziert werden. Die Expression dieser Marker scheint diesbezüglich eindeutig nach Polytrauma- Ereignis: unreife, ruhende PMN sind geringer nachweisbar, während der Anteil an ausdifferenzierten, aktivierten Neutrophilen deutlich erhöht ist. Für die MFI- Werte CD 33+/ CD 66b- sind besonders die Verläufe von den Patienten *3 und *5 hervorstechend, deren Ergebnisse für diesen Marker an einigen Messzeitpunkten (vor allem bei PT 240h) höher liegen als bei den restlichen Polytrauma-Patienten. Bei CD 33-/ CD 66b+ zeigen sich besondere Verläufe für die Patienten *3 und *8, die stark erhöhte MFI- Werte über den gesamten Messzeitraum haben und damit einen noch stärkeren Kontrast zum gesunden Kollektiv darstellen. *1, *2 und *5 liegen größtenteils in niedrigeren Wertebereichen, steigen jedoch an ihren jeweiligen letzten Messpunkten deutlich an und liegen dann ebenfalls sehr viel höher. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die PT- Patienten *5, *8 aber vor allem *3 bezüglich dieser MFI-

Marker besonders hervorstechen. Der Patient *3 ist größtenteils im Zustand eines schweren SIRS, während die Patienten *5 und *8 sich zunehmend verschlechtern und im Endpunkt bei beiden ein septischer Schock vorliegt. Auch bei der Ermittlung der SAPS3- Werte fällt auf, dass die Patienten *5 und *8 zur höher liegenden Gruppierung gehören. Auch Patient *3 liegt weiter oben als andere. Hier geht möglicherweise die Erhöhung der Expression beider MFI- Marker mit einer schlechteren Prognose bezüglich der Mortalität einher. Die Prozentwerte für CD 66b sind teilweise signifikant erhöht im Vergleich mit den gesunden Probanden. Betrachtet man den Verlauf an sich erkennt man, dass die zu Beginn gemessenen Werte bei allen Patienten höher als die zuletzt gemessenen Werte sind. Die Entwicklung diesen Markers ähnelt damit der des Markers CD 16. Für die MFI- CD 66b+-Ergebnisse sind wieder die Patienten *3 und *5 auffallend, die an ihren Endpunkten sehr verringerte Werte aufweisen. Auffallend ist außerdem der Verlauf des Patienten *2, der jedoch nicht mit einer bestimmten Ausrichtung der Scoring- Ergebnisse in Verbindung gebracht werden kann. Der Verlauf des Markers CD 33 zeigt die Besonderheit von zwei Gruppierungen mit entweder sehr hohen oder sehr niedrigen Ergebnissen. Auffallend ist, dass erneut die Patienten, die sich teilweise im septischen Schock befanden (*5 und *8), einer Gruppe zugehörig sind. Sie bilden mit einem weiteren Patienten (*3), der im Verlauf in einen schweren SIRS überging, die obere Gruppe mit CD 33- Prozentwerten von über 90%. Patienten mit besonders hohen Prozentwerten scheinen im posttraumatischen Verlauf vermehrt Vorläuferzellen ins Blut rekrutiert zu haben. Dies scheint vor allem bei den Patienten *3, *5 und *8 der Fall gewesen zu sein.

CD 11b

Die Ergebnisse der Prozentwerte für CD 11b sind denen der CD 66b- Auswertung (und damit auch der CD 16- Auswertung) ähnlich. Es bestehen Hinweise darauf, dass CD 66b die Möglichkeit besitzt, den CD 11b/ CD 18- Komplex zu regulieren und bei Aktivierung gleichzeitig eine Erhöhung der Leukozytenadhäsion bewirken zu können [71]. Diese Theorie würde erklären, weshalb die Ergebnisse einander gleichen. CD 11b weist zu mehreren Zeitpunkten relevant erhöhte Prozentwerte auf beim Vergleich mit den Gesunden. Erkennbar werden die Gemeinsamkeiten der Marker- Verläufe beispielsweise auch bei der Messung des PT 48h- Wertes des Patienten *5, dessen Knick sich durch alle drei Marker- Abbildungen zieht. In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass CD 11b bei Trauma-Geschehen und Infektionen hochreguliert wird [67,26]. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass CD 11b umso höher exprimiert ist, wenn die Patienten einen

septischen Verlauf aufzeigen [26.] Wie oben beschrieben, ist CD 16 aber tendenziell eher abfallend bei der Entwicklung einer Sepsis. Dazu würde passen, dass CD 11b des sich im septischen Schock befindlichen Patienten *5 zum Endpunkt hin weniger stark abfällt als bei CD 16 (und auch bei CD 66b). Festzuhalten ist folglich, dass es in der Literatur derzeit kontroverse Ergebnisse bezüglich der Expression dieses Markers gibt. In Kontrast zu oben genannten Studien steht beispielsweise die Erkenntnis von Babcock, der CD 11b bei Trauma- Patienten in geringerem Maße entdeckte als bei Gesunden und zudem eine negative Korrelation mit dem Infektionszustand vorfand [4]. Die MFI- Ergebnisse sind weniger einheitlich, weisen jedoch ähnliche Muster zu der Marker- Entwicklung der MFI-CD 66b+- Werte auf wie zum Beispiel bei dem Patienten *2.

CD 95

Beschreibt man den Verlauf des Apoptose- induzierenden Rezeptors CD 95, kann man sagen, dass die %Gated- Werte eher abfallen und bis auf zwei Ausnahmen zu den Endpunkten hin geringer sind als initial. Der Patient *8 zeigt einen besonderen Verlauf auf, da er zunächst kontinuierlich absinkt um dann ebenfalls wieder fortwährend anzusteigen. Außerdem liegen seine Werte meist unterhalb der Ergebnisse der anderen. Auch Patient *2 fällt auf, da sein erster und sein letzter Messzeitpunkt deutlich verringerte Ergebnisse präsentieren. Verglichen mit den gesunden Probanden liegen die Polytraumatisierten ausgenommen der Patienten *2 und *8 hauptsächlich in deren oberen Wertebereich. Direkt nach Polytrauma scheint vermehrt CD 95 exprimiert zu werden, die Apoptose scheint folglich direkt nach Polytrauma besonders stark zu sein und nimmt im Laufe der posttraumatischen Zeit ab. An dieser Stelle wäre interessant zu wissen, inwiefern sich die sFas- Konzentrationen im Serum gleichzeitig verhielten, da sFAs mit dem membrangebundenen CD 95 um den Liganden sFasL konkurriert und damit unter anderem die Apoptose steuert [12]. Außerdem wurde sFas als eventueller Sepsis- Prognose- Marker in Betracht gezogen [60]. Die MFI- Ergebnisse sind sehr uneinheitlich und liefern keine Auffälligkeiten in Bezug auf die Scoring- Entwicklung.

CD 39

Bei Betrachtung des CD 39- Verlaufes wird ersichtlich, dass sich die Patienten *3, *5 und *8 erneut sehr ähnlich entwickeln. Zunächst zeigen sie niedrige Prozentwerte, steigen dann jedoch zu ihren zuletzt gemessenen Zeitpunkten hin deutlich an. Der Marker CD 39 ist antiinflammatorisch, sowie antithrombotisch [62]. Die erst sehr geringen Prozentwerte der

Patienten *3, *5 und *8 sind passend zur Theorie der protektiven Funktion dieses Markers und zeigen bei diesen drei Patienten die fehlende Gegensteuerung und die resultierende Verschlechterung ihres Zustandes an. Unklar ist, warum vor allem die Polytraumatisierten *3 und *5 zu ihren Endpunkten hin stark ansteigen. Patient *5 befand sich zu dieser Zeit, ebenso wie Patient *8, im septischen Schock und möglicherweise überwog die hypoinflammatorische Komponente der septischen Situation und infolgedessen wurde vermehrt CD 39 freigesetzt. Der Polytraumatisierte *3 hingegen war derzeit lediglich in schwerem SIRS. Währenddessen verlaufen die Patienten *1 und *6 erst ansteigend und fallen dann im Weiteren wieder ab. Dies sind auch die Patienten, die sich im Laufe der Zeit hinsichtlich ihres SIRS- Schweregrades verbesserten: Patient *1 befand sich zum Zeitpunkt PT 24h im SIRS Schock, erholte sich davon jedoch wieder im Verlauf und für Patient *6 konnte bei PT 24h ein schwerer SIRS ermittelt werden, von der er sich ebenfalls wieder regenerierte. Der MFI- Verlauf verhält sich ähnlich der %Gated- Ausprägung und zeigt keine weiteren Besonderheiten.

Il- 17R

Il 17- R ist der Rezeptor für das Zytokin IL- 17, welches in der Lage ist, proinflammatorische Mediatoren zu aktivieren, die die Granulopoiese, aber auch die Aktivierung und die Rekrutierung von Neutrophilen zu Entzündungsgebieten fördern [46,87]. Damit ist IL- 17R direkt involviert in die Inflammationsreaktion. Bei der Auswertung der Polytraumatisierten im Verlauf zeigen sich für Il- 17R weitestgehend unauffällige Entwicklungen. Erkennbar ist, dass der Patient *8 deutlich unterhalb der übrigen PT- Patienten verläuft. Der Patient *3 liegt ebenfalls etwas niedriger im Vergleich. Beide sind auch gegenüber dem Wertebereich der gesunden Probanden erniedrigt. Vermutet man einen Zusammenhang zwischen septischer Erkrankung und verringerten Werten an IL- 17R ist fraglich, warum die Patienten *5 und *7, die über einen längeren Messzeitraum hin ebenfalls in septischem Schockzustand waren, nicht diese Ausprägungen aufweisen. Auffällig ist, dass sie im Vergleich mit den beiden anderen durch ihre ISS-Werte von 48 (*5) und 51 (*7) einen höheren Verletzungsgrad aufweisen. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass sich die zwei hier auffälligen Patienten zu den entsprechenden Messzeitpunkten in einer hypoinflammatorischen Phase der Sepsis befanden und dementsprechend verringert IL- 17R exprimiert wurde.

TLR- 2

Eine Erhöhung des TLR- 2- Markers spricht, wie oben erwähnt, höchstwahrscheinlich für eine hyperinflammatorische Situation, da auf ruhenden PMN das Vorkommen von TLR- 2 sehr gering ist und erst bei massiver Aktivierung der Immunantwort eine vermehrte TLR-2- Expression stattfindet. Gemäß verschiedenen Studien sind die TLR- 2- Werte zu Beginn einer Sepsis erhöht [29,82]. Die Entwicklung eines septischen Schocks wiederum führt laut Martins et al. zu einer verringerten Expression [48]. Bei Betrachtung der Verläufe der Polytrauma- Patienten zeigen sich zwei Auffälligkeiten. Zum einen sind die Patienten *1, *2 und *6 in ihren Entwicklungen ähnlich, da sie zunächst stark erhöhte TLR- 2-Prozentwerte aufweisen, die höherliegend sind als die übrigen Polytraumatisierten und als der gesunde Vergleich. Sie fallen zu ihren Endpunkten ab und sind dann annähernd wieder im gesunden Wertebereich zu finden. Die andere hervorstechende Entwicklung ist die der Patienten *4, *5 und *8, die ebenfalls ähnlich verlaufen, da sie sich konsequent in einem niedrigeren Wertebereich aufhalten. Ihr anfänglicher Anstieg direkt nach dem Trauma-Ereignis ist nur gering ausgeprägt. An den Endmesspunkten fallen sie noch weiter ab. Die MFI- Ergebnisse liefern dieselbe Unterteilung in zwei Gruppen, wobei hier jedoch der Patient *2 einen kontinuierlichen Werte- Anstieg zeigt, der anhand der Scoring- Ergebnisse an dieser Stelle nicht erklärbar ist. Anhand des SAPS3- Scorings lässt sich dieselbe Patienten- Unterteilung vollziehen: Hier weisen die Patienten *1, *2 und *6 niedrigere Scoring- Werte auf und befinden sich damit bezüglich ihrer Mortalität in einer prognostisch günstigeren Situation. Anfänglich erhöhte Werte scheinen im Fazit ein positives Zeichen für die weitere Entwicklung der Patienten zu sein. Initial nicht deutlich ansteigende Werte kennzeichnen die Patienten, die sich schon zu dem Zeitpunkt in einem septischen Schock befinden (*8) oder sich rasch dahingehend entwickeln werden (*5). Damit stimmt dies mit den Erkenntnissen von Martins et al überein, dass sich septischer Schock mit geringeren TLR- 2- Werten in Verbindung bringen lässt [48].

TLR- 4

TLR- 4 erkennt pathogene Strukturen anhand spezifischer Muster wie zum Beispiel LPS von gram-- Bakterien [76,36,69]. Durch die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine infolgedessen hilft dieses Oberflächenmolekül mit bei der Immunreaktion gegen die schädigenden Strukturen. Betrachtet man die Polytrauma- Verläufe fällt auf, dass die Patienten *1 und *3 starke Anstiege der TLR-4- Prozentwerte bei PT 120h aufzeigen. Alle

anderen PT- Patienten verlaufen innerhalb des Wertebereichs der Gesunden und sind nicht weiter hervorstechend. Anhand der verfügbaren klinischen Angaben und der Scoring-Ergebnisse ist nicht ersichtlich, weshalb diese beiden Patienten zu dem Zeitpunkt besonders erhöhte Messwerte haben. Die MFI- Verläufe sind bei *1, *2, *5 und *8 erwähnenswert, da die Patienten deutliche Anstiege der TLR-4- Expression zu ihren Endpunkten hin aufweisen. Der Polytraumatisierte *8 ist stark erhöht zum Zeitpunkt PT 24h, der Patient *3 bei PT 120h. In einer Studie von Williams et al. wurden Mäuse künstlich in eine septische Situation versetzt und im Folgenden unter anderem auf ihre TLR- 4- Expression hin untersucht. Daraus ergab sich ein korrelierender Zusammenhang zwischen der TLR- 4- Expression und der Mortalität [85]. Betrachtet man hier die SAPS 3-Auswertung kann festgehalten werden, dass die Höchstwerte von SAPS 3 und MFI- TLR-4 bei den Patienten *3 bei PT 120h und *4 bei PT48h korrelieren, für alle anderen Werte lässt sich die in oben genannter Studie ermittelte Beziehung nicht nachweisen. Augenfällig ist, dass wieder die Patienten *3, *5 und *8, die auch bei anderen CD- Markern bezüglich ihrer Ergebnisse hervorstechen, abermals gleiche Tendenzen aufweisen.

HLA- DR

Bei der Betrachtung der HLA- DR- Expression sind bis auf vier Ausnahmen alle weiteren gemessenen Werte dieses Markers im Bereich der gesunden Probanden- Ergebnisse. Die Patienten *3 und *5 stechen mit ihrem jeweiligen Messergebnis bei PT 240h deutlich hervor. Cheron et al. konnten eine verringerte HLA- DR- Expression nach Trauma-Geschehnis finden, die anhaltend war, wenn septische Komplikationen folgten. Sie stellten die erniedrigte Expression in Zusammenhang mit einer hypoinflammatorischen Situation in Folge eines Traumas [13]. Dementsprechend ist hier Patient *8, der als erstes einen septischen Schock entwickelt, besonders erniedrigt im kompletten Verlauf. Die Patienten *3 und *5 widersprechen dieser Tendenz, obwohl auch sie Komplikationen im Sinne einer eines schweren SIRS (*3) beziehungsweise eines septischen Schocks (*5) aufweisen.

4.2. Methoden- Analyse

4.2.1. Überlegungen zum Patientenkollektiv

Für die Beantwortung oben genannter Fragestellungen wurden Blutproben aus unterschiedlichen Kliniken verwendet. Die HLH- Patienten, sowie die LCH- Patienten

wurden größtenteils aus anderen Orten Deutschlands, aber auch Europaweit aus verschiedenen Krankenhäusern zur Bearbeitung zugesandt. Die Proben der OTS-, der Sepsis- und der Polytrauma- Patienten wurden aus den Abteilungen der Universitätsklinik Ulm rekrutiert. Der gesunde Vergleich bildete sich aus Freiwilligen, die an der Universität Ulm studieren, an der Universitätsklinik beschäftigt sind oder dort in Behandlung waren. Größtenteils waren dies junge Leute. Da die Patienten in erster Linie nach den Hauptdiagnosen HLH, LCH, OTS, Sepsis oder Polytrauma ausgewählt wurden, sind die einzelnen Gruppen in sich sehr heterogen. Auf Variablen wie Geschlecht, Alter, mögliche Vorerkrankungen und weitere Unterschiede wurden nicht eingegangen, sodass hier ungleichmäßige Gruppen entstanden sind. Dies kann eine mögliche Fehlerquelle sein, da beispielsweise das Alter oder das Geschlecht wie bei Elgethany et al. erwähnt, eine entscheidende Wirkung auf die CD- Expression haben können [18]. Es ist zu vermuten, dass zum Beispiel Vorerkrankungen und andere weitere Variablen ebenfalls das Ergebnis beeinflussen können. Außerdem wurden Polytraumatisierte gewählt, die aufgrund unterschiedlicher Unfallarten auch andersartige Verletzungsmuster und Schweregrade der Verletzungen aufwiesen. Durch die Verwendung von Scoring- Systemen, die die Mortalität, die Morbidität, den Schweregrad der Verletzung und die Ausbildung von SIRS/ Sepsis- Komplikationen darstellen, können diese Unterschiede teilweise erkenntlich gemacht und in die Diskussion miteinbezogen werden. Trotzdem ist zu beachten, dass durch die große Anzahl an Begleitvariablen als Störfaktoren, auf die bei Selektion der Patienten nicht weiter eingegangen werden konnte, das Ergebnis verfälscht worden sein kann.

Neben diesen möglichen Strukturungleichheiten kann auch nicht ausgeschlossen werden, dass eine Behandlungsungleichheit besteht: die Probanden der diversen Gruppen wurden teilweise zu unterschiedlichen Zeitpunkten ihrer Erkrankung untersucht, der Therapiestatus des Einzelnen war ebenfalls nicht immer ersichtlich.

Auch die Fallzahlen der einzelnen Gruppen an sich können durch ihre geringe Größe eine Fehlerquelle sein. Die vorliegende Arbeit soll jedoch Hypothesen generierend sein und daher wird die geringe Zahl an Probanden als richtungsweisend gesehen auf deren Grundlage dann eine weitere größer angelegte Studie Folge kann.

In dieser Arbeit wurde Wert auf Beschreibung der Ergebnisse gelegt, nicht zuletzt deshalb, da aufgrund der geringen Fallzahlen mit $p = 0{,}05$ ein schwaches Signifikanzniveau

festgelegt werden musste, welches mit höherer Wahrscheinlichkeit einen Fehler 1. Artes verursachen kann, bei dem der statistische Test fälschlicherweise als signifikant angenommen wird.

Ein weiteres Problem, welches sich aus der geringeren Fallzahl ergab, war, dass gebildete Subgruppen innerhalb der eigentlichen Gruppen statistisch nicht mehr auswertbar waren. Daher wurden diese zwar gesondert betrachtet und im Ergebnisteil auf Besonderheiten aufmerksam gemacht, sie konnten jedoch nicht weiter analysiert werden. Sie dienen damit lediglich zum Ausblick auf bestimmte Tendenzen, die sich ergeben könnten bei genauerer Differenzierung des Patientenkollektivs.

4.2.2. Überlegungen zur experimentellen Methodik/ zum Typisierungsverfahren

Aufgrund der unterschiedlichen Herkunft des verwendeten Blutmaterials war es nicht immer möglich die Proben direkt nach Entnahme zu bearbeiten. Es wurde jedoch stets darauf geachtet, dass das Blut so schnell wie möglich typisiert wurde um Verfälschungen durch zu lange Lagerungszeiten zu vermeiden.

Für die statistische Auswertung der Ergebnisse wurden nach sorgfältiger Überlegung der Mann-Whitney- U- Test und der Kruskal- Wallis- Test herangezogen. Bei beiden Tests handelt es sich um Verfahren, um Unterschiede zwischen unabhängigen Stichproben in ihrer zentralen Tendenz zu untersuchen. Der Mann- Whitney- U- Test kann für den Vergleich zweier Gruppen verwendet werden, der Kruskal- Wallis- Test kommt zum Einsatz bei Gegenüberstellungen von mehr als zwei Gruppen. Beide Tests sind Rangsummentests, bei dem Ränge verteilt werden und diese miteinander verglichen werden. Dadurch werden nicht die eigentlichen Werte miteinander verglichen, was ebenfalls die Auswertung vorliegender Ergebnisse einschränkt.

4.3. Schlussfolgerung

Die hier rekrutierten Patientenkollektive wurden auf den speziellen PMN- Phänotyp ihrer Erkrankung hinsichtlich der ausgewählten Marker untersucht.

Bei der Untersuchung der Unterschiede zwischen der gesunden Probandengruppe und dem HLH- Patientenkollektiv ergibt sich Folgendes:

Gemäß Angaben vorausgegangener Studien [52,67,79] zeigt sich hier als Zeichen einer Aktivierung der PMN eine erniedrigte Expression des Markers CD16 (%Gated und MFI). Ebenso unterstreichen die erniedrigten Ergebnisse für den Komplementfaktor- Rezeptor

CD 88 (MFI) den vorliegenden Zustand einer aktivierten Immunsituation der HLH-Gruppe. Dazu passend ist auch der Infektions- und Sepsis- Marker [33] CD 64 (MFI) gegenüber der gesunden Vergleichsgruppe erhöht. Weitere Auffälligkeiten ergeben sich für CD 95 (MFI) mit erhöhten und für TLR-2 (%Gated) mit relevant erniedrigten Werten. Eine stattgefundene Induktion der PMN spiegelt sich in der Erhöhung des HLA- DR-Markers, wie in der Literatur angegeben [80], wider. Erstaunlich sind die ermittelten Ergebnisse für den PMN- Aktivierungsmarker CD 66b (%Gated) und den Integrinbestandteil CD 11b (MFI), welche beide bei den HLH- Erkrankten signifikant erniedrigt sind und damit die entgegengesetzte Entwicklung dessen zeigen, was man bei Aktivierung einer adäquaten Immunantwort erwarten würde [3,88]. Den deutlichsten Unterschied zwischen den HLH- Patienten und den Gesunden liefert der Marker Il- 17R (%Gated). Im tierexperimentellen Versuch zeigte sich eine erhöhte Anfälligkeit für Infektionen bei Fehlen dieses Rezeptors, der eigentlich dafür zuständig ist, bei Aktivierung proinflammatorische Zytokine auszuschütten und so zu einer angemessenen Immunantwort beizutragen [75,11]. Die HLH- Patienten weisen höchst signifikant verringerte Werte für diesen Marker auf und weisen auf eine Besonderheit in der Oberflächen- Expression dieser Erkrankung hin.

Die Unterscheidung der LCH- Patienten- Gruppe von der gesunden Probanden- Gruppe weist drei Besonderheiten auf:

Der antiinflammatorisch- antithrombotisch wirksame Marker CD 39 (MFI) [62] ist beim LCH- Kollektiv signifikant erhöht. Dies ist ein einmaliges Ergebnis, da alle anderen Krankheitsgruppen in Bezug auf diesen Marker keine relevanten Unterschiede zum gesunden Kollektiv aufweisen. Des Weiteren sind erhöhte Ergebnisse der LCH- Patienten für CD 33-/ CD66b+ (MFI) und reziprok hierzu erniedrigte Werte für CD 33+/ CD 66b- (MFI) ermittelbar.

Nachfolgende Auffälligkeiten zeigt ein Vergleich der OTS- Gruppe mit den Gesunden:

Die TLR- 2- Expression (%Gated und MFI) ist bedeutsam erhöht in der OTS-Patientengruppe und weist auf eine Induktion der Expression auf den PMN hin, da in Ruhe nur geringe Mengen dieses Markers dort zu finden sind. Ebenso ist der Infektions-/ Sepsis-Marker CD 64 (%Gated) bei den OTS- Erkrankten erhöht. Durch die differenzierte Betrachtung der Sportler- Subgruppe des gesunden Kollektivs im Vergleich zu den OTS-Patienten ergibt sich für CD 11b (MFI) ein zusätzlich signifikanter Unterschied, bei dem

die gesunden Sportler deutlich erhöhte Werte gegenüber den Erkrankten aufweisen. In der Literatur gibt es hierzu kontroverse Ansätze [61,85].

Die Auswertung der unterschiedlichen Marker- Ausprägungen bei Gesunden und Sepsis-Patienten im Vergleich sieht wie folgt aus:

Die Sepsis- Erkrankten haben in ihrer CD 88- Expression (MFI) deutlich erniedrigte Werte. Damit deckt sich das Ergebnis hier mit den Ergebnissen aus der Literatur [22,77]. Weitere Besonderheiten zeigen sich für CD 33+/ CD 66b- (MFI) mit erniedrigten Werten und CD 33-/ CD 66b+ (MFI) mit erhöhten Werten. Mit den beiden letztgenannten Ergebnissen gleicht die Sepsis- Gruppe folglich der LCH- Gruppe. Erstaunlich ist, dass hier keine Unterschiede in Bezug auf den Infektions-/ Sepsis- Marker CD 64 zwischen Gesunden und Kranken zu ermitteln ist.

Die Polytraumatisierten sind durch insgesamt sieben Marker- Ausprägungen von den Gesunden abzugrenzen:

Die obengenannten drei Unterschiede der Sepsis- Gruppe zeigen sich auch hier wieder bei dem Vergleich der Polytraumatisierten mit den Gesunden: CD 88 (MFI) und CD 33+/ CD 66b- (MFI) sind verringert, während CD 33-/ CD 66b+ (MFI) relevant erhöht ist. Für den PMN- Aktivierungsmarker CD 66b (%Gated) ist bei den PT- Patienten eine erhöhte Expression nachweisbar, welche für eine stattgefundene Stimulation durch das Polytrauma- Geschehen spricht. Auch die CD 11b- Ausprägung (%Gated) ist, anders wie bei den HLH- Patienten, hier deutlich erhöht. Ebenso ist in der Literatur eine Erhöhung dieses Markers posttraumatisch nachgewiesen worden [26]. Für die Expression des Markers CD 16 ergibt sich ein kontroverses Bild. Während bei der HLH- Patientengruppe sowohl die MFI- als auch die %Gated- Ergebnisse signifikant erniedrigt sind hinsichtlich des gesunden Vergleichs, ist bei den Polytraumatisierten CD 16 (MFI) erniedrigt, gleichzeitig ist jedoch CD 16 (%Gated) erhöht. Auch in der Literatur sind posttraumatisch erniedrigte Werte gemessen worden [67].

Auch bei Betrachtung der Krankheiten im gegenseitigen Vergleich können Auffälligkeiten beschrieben werden. Signifikante Unterschiede der %Gated- Werte ergeben sich bei folgenden Gruppen und Markern im Vergleich:

Die HLH- Patienten und die Patienten der PT- Gruppe unterscheiden sich dadurch, dass die HLH- Erkrankten signifikant niedrigere Ergebnisse für CD 16, CD 66b und CD 11b haben,

dafür ist die HLA- DR- Ausprägung erhöht gegenüber den Polytraumatisierten, ebenso gegenüber den Sepsis- Patienten. Außerdem ist das HLH- Kollektiv bezüglich der CD 88-Werte gegenüber den LCH- Patienten und der TLR- 2- Werte gegenüber der OTS- Gruppe erniedrigt.

Signifikanzen in der Auswertung der MFI- Expression der verschiedenen Krankheiten untereinander im Vergleich zeigen sich für folgende Marker:

Die LCH- Patienten haben verglichen mit den HLH-, den Sepsis-, sowie den PT- Patienten relevant erhöhte Ergebnisse für CD 88. Ebenso sind die Werte für CD 33-/ CD 66b+ bei den LCH- Erkrankten höher als bei den OTS- und den HLH- Patienten. Für CD 33+/ CD 66b- gilt, dass die HLH- Patienten höhere Ergebnisse aufweisen als die LCH-, Sepsis- und PT-Erkrankten. Die OTS- Gruppe liegt in Bezug auf diesen Marker ebenfalls höher als die PT- Gruppe. Außerdem hat sie, verglichen mit dem HLH- Kollektiv, relevant erhöhte TLR- 2- Ergebniswerte.

Die Verlaufsbeobachtungen der CD- Marker bei Patienten nach Polytrauma- Ereignis liefern diese Besonderheiten:

Der Marker CD 16 (%Gated) weist bei drei Patienten (*1, *3 und *5) im Verlauf einen besonders starken Expressions- Abfall zu den Endmesszeitpunkten hin auf. Diese Polytraumatisierten befinden sich in schwerem SIRS bzw. in septischem Schock. Ein Patient (*6), der sich im Verlauf bezüglich SAPS 3, SOFA und auch Sepsis- Score am besten entwickelt, zeigt im Vergleich zu den anderen einen Anstieg der CD 16- Expression zum Endmesszeitpunkt hin an. Damit ergeben sich Hinweise auf eine bessere Immunsituation bei Vorliegen erhöhter CD- 16- Werte. Anhand der Scoring- Ergebnisse lassen sich jedoch weder ein relevanter Zusammenhang zwischen Schweregrad noch zwischen septischen Komplikationen und CD 16- Ergebnisse einheitlich ermitteln. In der Literatur ist ein Absinken der Expression durch Auftreten einer Infektion angegeben [4].

Für den Marker CD 88 (%Gated) können Parallelen zwischen besonders niedrigen Prozentwert- Ergebnissen (*4, *5, *8) und dem Schweregrad der septischen Situation der Betroffenen gezogen werden. Dies gilt jedoch nicht für alle Patienten.

Der Infektions- und Sepsis- Marker CD 64 zeigt bei den Polytraumatisierten für mehrere Zeitpunkte erhöhte Ergebnisse. In den Verläufen der einzelnen Patienten sind diese Erhöhungen an einigen Stellen korrelierend zum Schweregrad der Sepsis, sodass der

Patient in septischem Schock (*5) beispielsweise konstant erhöhte Werte aufweist. Diese Ergebnisse sind passend zur in der Literatur angegebenen anfänglichen Erhöhung der Expression dieses Markers bei Aktivierung der PMN durch Infektionsgeschehnisse [84]. Besonders verringerte Ergebniswerte dieses Markers bei anhaltend vorliegendem septischen Schock- Zustand scheinen ein Hinweis für eine vorliegende immunparalytische Phase der Schwerkranken zu sein [20]. Man kann folglich vermuten, dass einer der Patienten (*7) im Verlauf in eine Immunparalyse übergegangen ist, da er erst ansteigende und anschließend rapide wiederabfallende Werte für CD 64 aufweist.

Die Ergebnisse für CD 33+/ CD 66b- sind erniedrigt beim Vergleich mit den gesunden Probanden, gleichzeitig zeigen die Auswertungen für CD 33-/ CD 66b+ erhöhte Werte hinsichtlich des gesunden Vergleichs auf. Nach einem Polytrauma- Geschehen scheinen also unreife, ruhende PMN geringer nachweisbar zu sein, während der Anteil an ausdifferenzierten, aktivierten Neutrophilen deutlich erhöht ist. Einen besonders starken Kontrast zur gesunden Gruppe in oben genannter Form stellen drei Patienten dar, die sich den größten Teil des Messzeitraums über in schwerem SIRS (*3) beziehungsweise im septischen Schock (*5 und *8) befinden. Gleichzeitig liegen zwei der Patienten bezüglich ihrer SAPS3- Scoring- Ergebnisse innerhalb der höheren Wertegruppe, der dritte im oberen Teil der unteren Wertegruppe. Hier geht also die oben beschriebene Veränderung der Expression der MFI- Marker mit einer schlechteren Prognose bezüglich der Mortalität einher.

Betrachtet man den Verlauf des Markers CD 66b (%Gated) an sich, erkennt man, dass die zu Beginn gemessenen Werte bei allen Patienten höher als die zuletzt gemessenen Werte sind. Die Entwicklung diesen Markers ähnelt damit der des Markers CD 16.

Der Verlauf des Markers CD 33 (%Gated) zeigt die Besonderheit von zwei Gruppierungen mit entweder sehr hohen oder sehr niedrigen Ergebnissen. Auffallend ist, dass erneut die drei Patienten, die vorher durch einen ähnlichen Verlauf bezüglich ihrer CD 33/CD 66b auffielen (*3, *5 und *8), auch hier wieder einer Gruppe zugehörig sind mit CD 33- Prozentwerten von über 90%.

Die Ergebnisse der Prozentwerte für CD 11b sind denen der CD 66b- Auswertung (und damit auch der CD 16- Auswertung) ähnlich. Möglicherweise kann CD 66b den CD11b/ CD 18- Komplex regulieren, was diese Gemeinsamkeiten in gewisser Weise erklären würde [71]. Erkennbar werden die Ähnlichkeiten der Marker- Verläufe beispielsweise bei

der Messung des PT 48h- Wertes eines bestimmten Patienten (*5), dessen Werte- Knick sich durch alle drei Marker- Abbildungen zieht. In der Literatur bestehen derzeit kontroverse Ergebnisse bezüglich der Expression von CD 11b in Zusammenhang mit Trauma- Geschehnissen oder Infektionen [67,26,4]. Hier lässt sich sagen, dass die Polytraumatisierten bei ihren jeweiligen zuerst gemessenen Werten deutlich höher liegen als an ihren Endmesszeitpunkten.

Die Ergebnisse für den Marker CD 95 (%Gated) beschreiben bei dem Großteil der Polytraumatisierten einen Abfall des ersten Messwertes zum jeweiligen Endmesspunkt hin. Direkt nach Polytrauma scheint vermehrt CD 95 exprimiert zu werden, die Apoptose scheint folglich direkt nach Polytrauma besonders stark zu sein und nimmt im Laufe der posttraumatischen Zeit ab. Ein Patient (*8), der sich über eine lange Zeit des Messzeitraums in septischem Schock befindet, zeigt einen besonderen Verlauf und fällt zunächst kontinuierlich ab um dann ebenfalls wieder fortwährend anzusteigen. Außerdem liegen seine Werte meist unterhalb der Ergebnisse der anderen. Er zeigt damit stark abweichende Ergebnisse verglichen mit den anderen Polytraumatisierten dieser Gruppe.

CD 39 hat antiinflammatorische und antithrombotische Eigenschaften [62]. Drei der Patienten (*3, *5 und *8) zeigen in ihrer CD 39 (%Gated)- Ausprägung eine ähnliche Tendenz auf: Sie sind zunächst deutlich erniedrigt und gehen dann in stark erhöhte Werte an ihren Endmesszeitpunkten über. Es sind wieder diejenigen drei Patienten, die sich in schwerem SIRS beziehungsweise in septischem Schock befinden und auch bei anderen oben genannten Markern immer wieder als eine Gruppe zusammengefasst werden können. Eine weitere Auffälligkeit ergibt sich für einen Patienten (*6), dessen CD 39- Maximum sich bei 48h befindet. Genau zu diesem Messzeitpunkt ist ein sich bei ihm zuvor entwickeltes schweres SIRS wieder rückläufig. Dabei ist unklar, ob sich zunächst die Immunlage des Patienten verbessert hat und als Folge vermehrt CD 39 exprimiert wird oder der Anstieg von CD 39 zum Rückgang der schweren Sepsis mitbeiträgt.

Auch der Marker Il- 17R ist direkt an Inflammationsreaktionen beteiligt. Bei Bindung eines Liganden werden über ihn proinflammatorische Signale weitergegeben, die unter anderem zur Aktivierung und Rekrutierung von Neutrophilen beitragen [46,87]. Zwei Patienten (*3 und *8) weisen insgesamt niedrigere Werte für Il- 17R auf. Sie sind nicht nur gegenüber den anderen Polytraumatisierten, sondern auch gegenüber den gesunden Vergleichsprobanden erniedrigt. Sie befinden sich in schwerem SIRS bzw. in septischem

Schock. Fraglich ist, warum der Patient, der bei einigen oben genannten Markern ebenfalls ähnliche Verläufe zeigt wie die beiden anderen (*5), hier nicht dieselben Ausprägungen aufweist.

Anfänglich erhöhte Werte für TLR- 2 scheinen hier ein positives Zeichen für die weitere Entwicklung der Patienten zu sein. Initial nicht deutlich ansteigende Werte kennzeichnen die Patienten, die sich schon zu dem Zeitpunkt in einer schweren Sepsis/ einem septischen Schock befinden oder sich rasch dahingehend entwickeln. Damit stimmt dies mit Erkenntnissen aus der Literatur überein, dass sich ein septischer Schock mit geringeren TLR- 2- Werten in Verbindung bringen lässt [48]. Außerdem kann man sagen, dass diejenigen der Polytraumatisierten, die gemäß SOFA und SAPS 3 prognostisch günstiger eingestuft werden können (*1, *2 und *6), höhere Ergebniswerte für TLR- 2 aufweisen als die mit höheren Score- Werten (*4, *5 und *8).

In einer Studie wurden Mäuse künstlich in eine septische Situation versetzt und im Folgenden unter anderem auf ihre TLR- 4- Expression hin untersucht. Daraus ergab sich ein korrelierender Zusammenhang zwischen der TLR- 4- Expression und der Mortalität [49]. Hier lässt sich diese Theorie an zwei Messzeitpunkten von zwei unterschiedlichen Polytraumatisierten nachvollziehen, da sie zu diesen Messzeitpunkten ihr TLR- 4- Maximum und gleichzeitig ihren Höchstwert im SAPS 3- Score- Verlauf aufweisen. Für alle anderen Werte lässt sich eine solche Beziehung nicht nachweisen, sodass nicht auszuschließen ist, dass sich auch die oben genannte Korrelation zufällig ergeben hat.

Ein großer Teil der gemessenen Werte für HLA- DR befindet sich im Bereich der gesunden Probanden- Ergebnisse. In einer Studie ließ sich eine verringerte HLA- DR- Expression nach Trauma- Geschehnis finden, die anhaltend war, wenn septische Komplikationen folgten. Die erniedrigte Expression wurde in Zusammenhang mit einer hypoinflammatorischen Situation in Folge eines Traumas gestellt [13]. Dementsprechend ist auch hier der Patient (*8), der sich von Beginn an in einem septischen Schock befindet, besonders erniedrigt im kompletten Verlauf. Die zwei weiteren Polytraumatisierten (*3 und *5), die bei anderen Markern ähnliche Verläufe zeigen, widersprechen jedoch dieser Tendenz, obwohl auch sie Komplikationen im Sinne eines schweren SIRS/ eines septischen Schocks aufweisen.

Beurteilung der Score- Ergebnisse

Sowohl bei Betrachtung der SOFA- Ergebnisse als auch bei Erhebung der SAPS 3- Werte lassen sich zwei Gruppen voneinander abgrenzen. Die höher liegende Gruppierung bilden die Patienten *5, *7 und *8. Die zweite Gruppierung setzt sich aus den übrigen Patienten *1, *2, *3 und *6 zusammen. Der Patient *4 lässt sich der unteren gemäß SOFA und der oberen Gruppe gemäß SAPS 3 zuordnen. Zu beachten ist dabei, dass SAPS 3 eigentlich nur als Aufnahme- Score verwendet wird und hier ergänzend im Verlauf dargestellt wird. Im ISS lassen sich Werte zwischen 27 und 51 ermitteln. Auch hier haben die Patienten *2, *3 und *6 die geringsten Werte vorzuweisen und zeichnen sich damit durch einen weniger schwerwiegenden Verletzungsgrad aus. Die Patienten *4, *5, *7 und *8 liegen in höheren Ergebnisbereichen. Eine Ausnahme ist Patient *1, der gemäß ISS hier eher außerhalb seiner sonstigen Gruppenzuteilung (SOFA/ SAPS 3) zu finden ist.

Für die Polytraumatisierten *1, *2, *3 und *6, die im SOFA und im SAPS 3 niedrigere Werte aufweisen, zeigt sich bei Ermittlung des SIRS/ Sepsis- Scores, dass sich alle vier Patienten in die Stadien gesund, SIRS, schwere SIRS und SIRS Schock einteilen lassen. Keiner dieser Patienten befindet sich in septischem Zustand.

Die Patienten *4, *5, *7 und *8 mit prognostisch ungünstigerer Bewertung im SAPS 3 und (teilweise) im SOFA weisen alle septische Komplikationen auf. Dabei gehen die Polytraumatisierten *5, *7 und *8 schließlich in einen septischen Schock über. Der Patient *4, der im SOFA- Score tendenziell eher der unteren Gruppierung zuzuordnen ist, entwickelt im Verlauf eine schwere Sepsis, jedoch noch keinen septischen Schock.

5. Zusammenfassung

In vorliegender experimenteller Arbeit wurden die fünf Krankheiten HLH (hämophagozytische Lymphohistiozytose), LCH (Langerhanszellhistiozytose), OTS (Overtraining- Syndrom), Sepsis und Polytrauma untersucht. Mittels Immunphänotypisierung wurde die CD (Cluster of Differentiation)- Oberflächenmarker-Expression von insgesamt zwölf verschiedenen Markern auf PMN (polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten) ermittelt. Dazu wurden jeweils acht bis sechzehn Personen pro Krankheitsgruppe und dreizehn Freiwillige für den gesunden Vergleich rekrutiert. Dies geschah zur Klärung der Frage nach einem charakteristischen CD- Marker- Profil der einzelnen Krankheitsgruppen (in Bezug auf den gesunden Vergleich), der Fragen nach eventuellen Auffälligkeiten im Gesamtgruppenvergleich der Krankheiten untereinander und der Frage nach der Entwicklung der Marker im posttraumatischen Verlauf der Polytraumatisierten. Das prozentuale Vorkommen an CD- positiven- Zellen (%Gated) und die mittlere CD- Expressionsdichte (MFI/ Mean Fluorescence Intensity) wurden durch die Durchflusszytometrie bestimmt und in Diagrammen dargestellt. Für die Beantwortung der Frage nach dem Expressionsmuster innerhalb einer Krankheitsgruppe beziehungsweise nach einem charakteristischen „CD- Marker- Profil“ wurde der Mann- Whitney- U- Test durchgeführt. Anhand des gesunden Vergleichs konnten auf diese Weise folgende signifikante Unterschiede der einzelnen Krankheiten herausgearbeitet werden: Die HLH-Gruppe zeigte für CD 16 (MFI und %Gated), CD 66b (%Gated), Il- 17R (%Gated), TLR- 2 (%Gated), CD 88 (MFI) und CD 11b (MFI) signifikant erniedrigte Ergebnisse und für HLA- DR (%Gated), CD 64 (MFI) und CD 95 (MFI) signifikant erhöhte Werte im Vergleich mit dem gesunden Probandenkollektiv. Für die LCH- Gruppe konnten relevante Werte vor allem für CD 39 (MFI) in Form von bedeutend höheren Ergebnissen und für CD 33/ CD 66b (MFI) erkenntlich gemacht werden. Die OTS- Gruppe wies signifikante Unterschiede zu den Gesunden hinsichtlich ihrer CD 64- Expression (%Gated) und ihrer TLR- 2 (%Gated und MFI)- Expression auf, alle drei Marker- Werte waren deutlich erhöht gegenüber dem gesunden Vergleich. Beim Vergleich der Sepsis- Gruppe und den Gesunden waren CD 88 (MFI) und CD 33+/ CD 66b- (MFI) mit signifikant niedrigeren Ergebnissen auffallend, während CD 33-/ CD 66b+ (MFI) in höherem Wertebereich zu finden war. Die Polytraumatisierten zeigten relevante Unterschiede mit jeweils erhöhten Werten für CD 16 (%Gated), CD 66b (%Gated), CD 11b (%Gated) und CD 33-/ CD 66b+ (MFI) und erniedrigten Ergebnissen für CD 16 (MFI), CD 88 (MFI) und CD 33+/ CD 66b-

(MFI). Auch bei der anschließenden Auswertung des Gesamtgruppenvergleichs (berechnet durch den Kruskal- Wallis- Test und den darauffolgenden Dunn's Post Test) präsentierten sich signifikante Unterschiede der Patientengruppen untereinander. Bei der Verlaufsbeobachtung der Polytraumatisierten wurden folgende Auffälligkeiten ersichtlich: Es ergaben sich Hinweise auf eine bessere Immunsituation bei Vorliegen erhöhter CD- 16- Werte (% Gated) durch die gleichzeitige Besserung im SOFA (Sequential Organ Failure Assessment)-, SAPS 3 (Simplified Acute Physiology Score)- und Sepsis- Score. Für CD 88 (%Gated) konnte bei einigen der Patienten Parallelen zwischen besonders niedrigen Prozentwerten und der Schwere der septischen Situation gezogen werden. In den Verläufen waren CD 64- Erhöhungen an einigen Stellen korrelierend zum Schweregrad der Sepsis. Betrachtete man den Verlauf des Markers CD 66b (%Gated), erkannte man, dass die zu Beginn gemessenen Werte bei allen höher als die zuletzt gemessenen Werte waren. Die Entwicklung dieses Markers ähnelte damit der der Marker CD 16 und CD11b. Der Verlauf des Markers CD 33 (%Gated) zeigte die Besonderheit von zwei Gruppen mit entweder sehr hohen oder sehr niedrigen Werten. Der Marker CD 95 (%Gated) beschrieb bei dem Großteil der Polytraumatisierten einen Abfall des ersten Messwertes zum jeweiligen Endmesspunkt hin. Anfänglich erhöhte Werte für TLR- 2 schienen hier ein positives Zeichen für die weitere Entwicklung zu sein, da initial nicht deutlich ansteigende Werte diejenigen kennzeichneten, die sich schon zu dem Zeitpunkt in einer schweren Sepsis/ einem septischen Schock befanden oder sich dahingehend entwickelten. Sowohl bei Betrachtung der SOFA- Ergebnisse als auch bei Erhebung der SAPS 3- Werte ließen sich zwei Gruppen von Polytraumatisierten voneinander abgrenzen. Drei der Patienten zeigten immer wieder ähnliche Verläufe. Dabei gehörten zwei zur höher liegenden Gruppe im SOFA- und SAPS 3- Score und entwickelten einen septischen Schock. Der dritte hingegen gehörte zur unteren Gruppierung und befand sich in schwerem SIRS. Die Patienten mit initial prognostisch ungünstigerer Bewertung im SAPS 3, im SOFA, aber auch im ISS (Injury Severity Score) wiesen septische Komplikationen auf und ließen vermuten, dass erhöhte SOFA- und SAPS 3- Bewertungen mit einem höheren Risiko für die Entwicklung einer Sepsis einhergehen, ebenso wie ein schwerwiegenderer Verletzungsgrad im ISS. Im Gesamten spiegelten die Ergebnisse dieser Arbeit wider, dass sich je nach Krankheit unterschiedliche CD- Marker- Profile auf PMN ermitteln lassen und, dass auch die Verlaufsbeobachtung entscheidend ist, da Krankheitsgruppen intraindividuelle Unterschiede aufweisen können. Zu beachten ist, dass es sich hier um eine explorative Datenanalyse handelt, die lediglich richtungsweisend sein kann.

6. Literaturverzeichnis

[1] Amara, U., Kalbitz, M., Perl, M., Flierl, M. A., Rittirsch, D., Weiss, M., Schneider, M., Gebhard, F., Huber- Lang, M.. Early expression changes of complement regulatory proteins and C5a rezeptor (CD88) on leukocytes after multiple injury in humans. Shock 33. 568- 575. (2010)

[2] Angus, D. C., van der Poll, T.. Severe sepsis and septic shock. N Engl J Med 369. 840- 851. (2013)

[3] Arnaout, A.. Structure and function of the leukocyte adhesion molecules CD11/CD18. Blood 75. 1037- 1050. (1990)

[4] Babcock, G. F.. Predictive medicine: severe trauma and burns. Cytometry B Clin Cytom 53B. 48- 53. (2003)

[5] Badalian- Very, G., Vergilio, J- A., Degar, B. A., Rodriguez- Galindo, C., Rollins, B. J.. Recent advances in the understanding of Langerhans cell histiocytosis. Br J Haematol 156. 163- 172. (2011)

[6] Barth, E., Fischer, G., Schneider, E. M., Wollmeyer, J., Georgieff, M, Weiss, M.. Differences in the expression of CD 64 and mCD 14 on polymorphonuclear cells and monocytes in patients with septic shock. Cytokine 14. 299- 302. (2001)

[7] Bode S. F. N., Lehmberg, K., Maul- Pavicic, A., Vraetz, T., Janka, G., zur Stadt, U. and Ehl, S. Recent advances in the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis. Arthritis Res Ther 14: 213. 1- 12. (2012)

[8] Budgett, R.. Fatigue and underperformance in athletes: the overtraining syndrome. Br J Sports Med 32. 107- 110. (1998)

[9] Castillo, L., Carcillo, J.. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis and severe sepsis/ systemic inflammatory response syndrome/multiorgan dysfunction syndrome/macrophage activation syndrome share common intermediate phenotypes on a spectrum of inflammation. Pediatr Crit Care Med 10. 387- 392. (2009)

[10] Chakravarti, A., Raquil, M. A., Tessier, P., Poubelle, P. E.. Surface RANKL of Toll-like receptor 4- stimulated human neutrophils activates osteoclastic bone resorption. Blood 114. 1633- 1644. (2009)

[11] Chang, S. H., Dong, C.. Signaling of Interleukin- 17 family cytokines in immunity and inflammation. Cell Signal 7:23. 1069- 1075. (2011)

[12] Cheng, J., Zhou, T., Liu, C., Shapiro, J. P., Brauer, M. J., Kiefer, M. C., Barr, P. J., Mountz, J. D.. Protection from Fas- mediated apoptosis by a soluble form of the Fas molecule. Science 263. 1759- 1762. (1994)

[13] Cheron, A., Floccard, B., Allaouchiche, B., Guignant, C., Poitevin, F., Malcus, C., Crozon, J., Faure, A., Guillaume, C., Marcotte, G., Vulliez, A., Monneuse, O., Monneret, G.. Lack of recovery in monocyte human leukocyte antigen-DR expression is independently associated with the development of sepsis after major trauma. Crit Care 14. R208. 1- 10. (2010)

[14] Crocker, P. R., Varki, A.. Siglecs, sialic acids and innate immunity. Trends Immunol 22. 337- 342. (2001)

[15] Danikas, D. D., Karakantza, M., Theodorou, G. L., Sakellaropoulos, G. C., Gogos, C. A.. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression. Clin Exp Immunol 154. 87– 97. (2008)

[16] De Freitas I., Fernández-Somoza M., Essenfeld-Sekler E., Cardier J. E.. Serum levels of the apoptosis-associated molecules, tumor necrosis factor-alpha/tumor necrosis factor type-I receptor and Fas/FasL, in sepsis. Chest.125. 2238- 2246. (2004)

[17] Durand, V., Pers, J- O., Renaudineau, Y., Youinou, P., Jamin, C.. Soluble Fcγ receptor IIIb alters the function of polymorphonuclear neutrophils but extends their survival. Eur J Immunol 31. 1952- 1961. (2001)

[18] Elgethany, M. T., Lacombe, F.. Physiologic variations in granulocytic surface antigen expression: impact of age, gender, pregnancy, race and stress. J Leukoc Biol 75. 157- 162. (2004)

[19] Feuk- Lagerstedt, E., Jordan, E. T., Leffler, H., Dahlgren, C., Karlsson, A.. Identification of CD 66a und CD 66b as the major Galectin- 3 receptor candidates in human neutrophils. J Immunol 163. 5592– 5598. (1999)

[20] Fischer, G., Schneider, E. M., Moldawer, L. L., Karcher, C., Barth, E., Suger-Wiedeck, H., Georgieff, M., Weiss, M.. CD 64 surface expression on neutrophils is transiently upregulated in patients with septic shock. Intensive Care Med. 27. 1848- 1852. (2001)

[21] Fleit, H. B., Kobasiuk, C. D., Daly, C., Furie, R., Levy, P. C., Webster, R. O.. A soluble form of Fc gamma RIII is present in human serum and other body fluids and is elevated at sites of inflammation. Blood 79. 2721- 2728. (1992)

[22] Furebring, M., Hakansson, L. D., Venge, P., Nilsson, B., Sjölin, J.. Expression of the C5a receptor (CD88) on granulozytes and monocytes in patients with severe sepsis. Crit Care 6. 363- 370. (2002)

[23] Gabay, C., Krenn, V., Bosshard, C., Seemayer, C. A., Chizzolini, C., Huard, B.. Synovial tissues concentrate secreted APRIL. Arthritis Res Ther 11. R144. 1- 10. (2009)

[24] Gaffen, S.L.. Recent advances in the Il- 17 cytokine family. Curr Opin Immunol 23. 613- 619. (2011)

[25] Genel, F., Atlihan, F., Gulez, N., Kazanci, E., Vergin, C., Terek, D. T., Yurdum, O. C.. Evaluation of adhesion molecues CD 64, CD 11b and CD 62L in neutrophils and monocytes of peripheral blood for early diagnosis of neonatal infection. World J Pediatr 8. 72- 75. (2012)

[26] Giannoudis, P. V., Smith, R. M., Banks, R. E., Windsor, A. C. J., Dickson, R. A., Guillou, P. J.. Stimulation of inflammatory markers after blunt trauma. Br J Surg 85. 986-990. (1998)

[27] Gleeson, M., McFarlin, B., Flynn, M.. Exercise and Toll- like receptors. Exerc Immunol Rev 12. 34- 53. (2006)

[28] Guo, R- F., Riedemann, N. C., Ward, P. A.. Role of C5a- C5aR interaction in sepsis. Shock 21. 1-7. (2004)

[29] Härter, L., Mica, L., Stocker, R., Trentz, O., Keel, M.. Increased expression of Toll-like- receptor- 2 and - 4 on leukocytes from patients with sepsis. Shock 22. 403- 409. (2004)

[30] Henrich, D., Zimmer, S., Seebach, C., Frank, J., Barker, J., Marzi, I.. Trauma-activated polymorphnucleated leukocytes damage endothelial progenitor cells: probable role of CD 11b/ CD 18- CD 54 interaction and release of reactive oxygen species. Shock 36. 216- 222. (2011)

[31] Hernández-Caselles, T., Martínez-Esparza, M., Pérez-Oliva, A. B., Quintanilla-Cecconi, A. M., Garcìa- Alonso, A., Alvarez- López, D. M. R., García- Peñarrubia, P.. A study of CD33 (SIGLEC-3) antigen expression and function on activated human T and NK cells: two isoforms of CD33 are generated by alternative splicing. J Leukoc Biol 79. 46-58. (2006)

[32] Hietbrink, F., Koenderman, L., Rijkers, G. T., Leenen, L. P. H.. Trauma: the role of the innate immune system. World J Emerg Surg 1:15. 1- 15. (2006)

[33] Hoffmann, J. J. M. L.. Neutrophil CD 64: a diagnostic marker for infection and sepsis. Clin Chem Lab Med 47. 903- 916. (2009)

[34] Icardi, M., Erickson, Y., Kilborn, S., Stewart, B., Grief, B., Scharnweber, G.. CD 64 index provides simple and predictive testing for detection and monitoring sepsis and bacterial infection in hospital patients. J Clin Microbiol 47. 3914- 3919. (2009)

[35] Janka, G. E.. Familial and acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis. Annu Rev Med 63. 233-246. (2012)

[36] Kawai, T., Akira, S.. TLR signaling. Cell Death Differ 13. 816–825. (2006)

[37] Keel, M., Trentz, O.. Pathophysiology of polytrauma. Injury 36. 691- 709. (2005)

[38] Krammer, P. H.. CD 95's deadly mission in the immune system. Nature 407. 789-795. (2000)

[39] Lancaster, G. I., Khan, Q., Drysdale, P., Wallace, F., Jeukendrup, A. E., Drayson, M. T., Gleeson, M.. The physiological regulation of Toll- like receptor expression and function in humans. J Physiol 563. 945- 955. (2005)

[40] Largiadèr, F., Saeger, D., Trentz, O.. Checkliste Chirurgie. 9. Auflage (2008), Thieme, Stuttgart, 125- 129.

[41] Lim, S. Y., Ham, C. R., Park, S. Y., Kim, S., Park, M. R., Jeon, K., Um, S- W., Chung, M. P., Kim, H., Kwon, O. J., Suh, G. Y.. Validation of the Simplified Acute Physiology Score 3 scoring system in a Korean intensive care unit. Yonsei Med J 52. 56- 64. (2011)

[42] Löffler, G., Petrides, P. E., Heinrich, P. C.. Biochemie und Pathobiochemie.8. Auflage (2007), Springer, Heidelberg, 791- 1135.

[43] Lubberts, E., Koenders, M. I., Van den Berg, W. B.. The role of T- cell interleukin- 17 in conducting destrucitve arthritis: lessons from animal models. Arthritis Res Ther 7. 29- 37. (2005)

[44] Lüllmann- Rauch,R.. Taschenlehrbuch Histologie. 2. Auflage(2006), Thieme, Stuttgart, 273- 283.

[45] MacKinnon, L. T.. Overtraining effects on immunity and performance in athletes. Imunol Cell Biol 78. 502–509. (2000)

[46] Mantovani,A., Cassatella,M. A., Costantini, C., Jaillon, S.. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. Nat Rev Immunol 11. 519- 531. (2011)

[47] Marcus, A. J., Broekman, M. J., Drosopoulos, J. H. F., Olson, K. E., Islam, N., Pinsky, D. J., Levi, R.. Role of CD39 (NTPDase-1) in thromboregulation, cerebroprotection, and cardioprotection. Semin Thromb Hemost 3. 234- 246. (2005)

[48] Martins, P. S., Brunialti, M. K. C., Martos, L. S. W., Machado, F. R., Assunçao, M. S., Blecher, S., Salomao, R.. Expression of cell surface receptors and oxidative metabolism modulation in the clinical continuum of sepsis. Crit Care 12. R25. 1- 10. (2008)

[49] Metnitz, P. G. H., Moreno, R. P., Almeida, E., Jordan, B., Bauer, P., Campos, R. A., Iapichino, G., Edbrooke, D., Capuzzo, M., Le Gall, J- R.. SAPS 3—From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 1: Objectives, methods and cohort description. Intensive Care Med 31. 1336– 1344. (2005)

[50] Minne, L., Abu- Hanna, A., de Jonge, E.. Evaluation of SOFA-based models for predicting mortality in the ICU: A systematic review. Crit Care 12. R161. 1- 13. (2008)

[51] Mizumoto, N., Kumamoto, T., Robson, S. C., Sévigny, J., Matsue, H., Enjyoji, K., Takashima, A.. CD 39 is the dominant Langerhans cell- associated ecto- NTPDase: Modulatory roles in inflammation and immune responsiveness. Nat Med 8. 358- 364. (2002)

[52] Moldovan, I., Galon, J., Maridonneau- Parini, I., Roman, S. R., Mathiot, C., Fridman, W- H., Sautès- Fridman, C.. Regulation of production of soluble Fcγ receptors type III in normal and pathological conditions. Immunol Lett 68. 125- 134. (1999)

[53] Monk, P. N., Scola, A- M., Madala, P., Fairlie, D. P.. Function, structure and therapeutic potential of complement C5a receptors. Br J Pharmacol 152. 429–448. (2007)

[54] Moreno, R. P., Metnitz, P. G. H., Almeida, E., Jordan, B., Bauer, P., Campos, R. A., Iapichino, G., Edbrooke, D., Capuzzo, M., Le Gall, J- R.. SAPS 3—From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: Development of a prognostic model for hospital mortality at ICU admission. Intensive Care Med 31. 1345–1355. (2005)

[55] Muller Kobold, A. C., Tulleken, J. E., Zijlstra, J. G., Sluiter, W., Hermans, J., Kallenberg, C. G. M., Cohen Tervaert, J. W.. Leukocyte activation in sepsis; correlation with disease state and mortality. Intensive Care Med 26. 883- 892. (2000)

[56] Nathan, C.. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. Nat Rev Immunol 6. 173–182. (2006)

[57] Nuutila, J., Hohenthal, U., Laitinen, I., Kotilainen, P., Rajamäki, A., Nikoskelainen, J., Lilius, E- M.. Simultaneous quantitative analysis of FcγRI (CD64) expression on neutrophils and monocytes: A new, improved way to detect infections. J Immunol Methods 328. 189– 200. (2007)

[58] Oliveira, M., Gleeson, M.. The influence of prolonged cycling on monocyte Toll- like receptor 2 and 4 expression in healthy men. Eur J Appl Physiol 109. 251- 257. (2010)

[59] Paterson, H. M., Murphy, T. J., Purcell, E. J., Shelley, O., Kriynovich, S. J., Lien, E., Mannick, J. A., Lederer, J. A.. Injury primes the innate immune system for enhanced Toll-like- receptor reactivity. J Immunol 171. 1473- 1483. (2003)

[60] Paunel- Görgülü, A., Flohé, S., Scholz, M., Windolf, J., Lögters, T.. Increased serum soluble Fas after major trauma is associated with delayed neutrophil apoptosis and development of sepsis. Crit Care 15. R20. 1- 10. (2011)

[61] Peake, J., Wilson, G., Hordern, M., Suzuki, K., Yamaya, K., Nosaka, K., Mackinnon, L., Coombes, J. S.. Changes in neutrophil surface receptor expression, degranulation, and respiratory burst activity after moderate- and high-intensity exercise. J Appl Physiol 97. 612-618. (2004)

[62] Pulte, E. D., Broekman, M. J., Olson, K. E., Drosopoulos, J. H. F., Kizer, J. R., Islam, N., Marcus, J. A.. CD39/NTPDase-1 activity and expression in normal leukocytes. Thromb Res 121. 309–317. (2007)

[63] Qureshi, S. S., Lewis, M., Gant, V. A., Treacher, D., Davis, B. H. & Brown, K. A.. Increased distribution and expression of CD64 on blood polymorphonuclear cells from patients with the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Clin Exp Immunol 125. 258- 265. (2001)

[64] Riedemann, N. C., Guo, R- F., Ward, P. A.. A key role of C5a/ C5aR activation for the development of sepsis. J Leukoc Biol 74. 966- 970. (2003)

[65] Roosnek, E., Burjanadze, M., Dietrich, P. Y., Matthes, T., Passweg, J., Huiard, B.. Tumors that look for their springtime in APRIL. Crit Rev Oncol Hematol 72. 91- 97. (2009)

[66] Schröder, A. K., Uciechowski, P., Fleischer, D., Rink, L.. Crosslinking of CD 66b on peripheral blood neutrophils mediates the release of Interleukin- 8 from intracellular storage. Hum Immunol 67. 676- 682. (2006)

[67] Shih, H. C., Su, C. H., Lee, C. H.. Alternations of surface antigens on leukocytes after severe injury: correlation with infectious complications. Intensive Care Med 24. 152- 156. (1998)

[68] Siegenthaler, W.. Klinische Pathophysiologie. 8. Auflage (2001), Thieme, Stuttgart, 492- 521.

[69] Siegmund-Schultze, N.. Toll-like-Rezeptoren: Neue Zielstruktur für immunstimulierende Medikamente. Dtsch Arztebl 104(16): A-1072 / B-954 / C-908 (2007).

[70] Skubitz, K. M., Campbell, K. D., Skubitz, A. P.. CD 66a, CD 66b, CD 66c, and CD 66d each independently stimulate neutrophils. J Leukoc Biol 60. 106- 117. (1996)

[71] Skubitz, K. M., Campbell, K. D., Skubitz, A. P.. Synthetic peptides from the N-domains of CEACAMs activate neutrophils. J Pept Res 58. 515- 526. (2001)

[72] Skubitz, K. M., Skubitz, A. PN.. Interdependency of CEACAM-1, -3, -6, and -8 induced human neutrophil adhesion to endothelial cells. J Transl Med 6:78. 1- 12.(2008)

[73] Soni, S., Wadhwa, N., Kumar, R., Faridi, M. M. A., Sharma, S., Chopra, A., Singh, S.. Evaluation of CD 64 expression on neutrophils as an early indicator of neonatal sepsis. Pediatr Infect Dis J. e33- e37. (2013)

[74] Striebel, H. W.. Anästhesie, Intensivmedizin, Notfallmedizin. 8. Auflage (2013) Schattauer, Stuttgart, 342- 347, 524- 526.

[75] Torrado, E. Cooper, A. M.. Il- 17 and TH17 cells in tuberculosis. Cytokine Growth Factor Rev 6:21. 455- 462. (2010)

[76] Tsujimoto, H., Ono, S., Efron, P. A., Scumpia, P. O., Moldawer, L. L., Mochizuki, H.. Role of Toll-like receptors in the development of sepsis. Shock 29. 315- 321. (2008)

[77] Unnewehr, H., Rittirsch, D., Sarma, J. V., Zetoune, F., Flierl, M. A., Perl, M., Denk, S., Weiss, M., Schneider, M. E., Monk, P. N., Neff, T., Mihlan, M., Barth, H., Gebhard, F., Ward, P. A., Huber- Lang, M.. Changes and regulation of the C5a receptor on neutrophils during septic shock in humans. J Immunol 190. 4215- 4225. (2013)

[78] Van Eeden, S. F., Granton, J., Hards, J. M., Moore, B., Hogg, J. C.. Expression of the cell adhesion molecules on leukocytes that demarginate during acute maximal exercise. J Appl Physiol 86. 970- 976. (1999)

[79] Van Sorge, N. M., van der Pol, W- L., van de Winkel, J. G. J.. FcγR polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. Tissue antigens 61. 189- 202. (2003)

[80] Vella, A., Sartoris, S., Bambara, L. Ortolani, R., Carletto, A., Biasi, D., Stefani, E., Tridente, G.. Cell contact-dependent PMN HLA-DR and CD69 membrane expression

induced by autologous mono-lymphocytes and cell lines. Inflammation 4:26. 143- 152. (2002)

[81] Venet, F., Tissot, S., Debard, A. L., Faudot, C., Crampé, C., Pachot, A., Ayala, A., Monneret, G.. Decreased monocyte human leukocyte antigen-DR expression after severe burn injury: Correlation with severity and secondary septic shock. Crit Care Med 35.1910-1917. (2007)

[82] Viemann, D., Dubbel, B., Schleifenbaum, S., Harms, E., Sorg, C., Roth, J.. Expression of Toll-like receptors in neonatal sepsis. Pediatr Res 58. 654- 659. (2005)

[83] Vincent, J- L., Moreno, R., Takala, J., Willatts, S., De Mendonça, A., Bruining, H., Reinhart, C. K., Suter, P. M., Thijs, L. G.. The SOFA (Sepsis- related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/ failure. Intensive Care Med 22. 707-710. (1996)

[84] Wagner, C., Deppisch, R., Denefleh, B., Hug, F., Andrassy, K., Hämsch, G. M.. Expression patterns of the lipopolysaccharide receptor CD 14, and the Fcγ receptors CD 16 and CD 64 on polymorphonuclear neutrophils: Data from patients with severe bacterial infections and lipopolysaccharide- exposed cells. Shock 19. 5- 12. (2003)

[85] Williams, D. L., Ha, T., Li, C., Kalbfleisch, J. H., Schweitzer, J., Vogt, W., Browder, I. W.. Modulation of tissue Toll-like receptor 2 and 4 during the early phases of polymicrobial sepsis correlates with mortality. Crit. Care Med. 31. 1808- 1818. (2003)

[86] Windebank, K. Nanduri, V.. Langerhans cell histiocytosis. Arch Dis Child 94. 904–908 (2009).

[87] Yu, J. J., Ruddy, M. J., Wong, G. C., Sfintescu, C., Baker, P. J., Smith, J. B., Evans, R. T., Gaffen, S. L.. An essential role for Il- 17 in preventing pathogen- initiated bone destruction: recruitment of neutrophils to inflamed bone requires Il- 17 receptor- dependent signals. Blood 109. 3794- 3802. (2007)

[88] Zhao, L., Xu, S., Fjaertoft, G., Pauksen, K., Håkansson, L., Venge, P.. An enzyme-linked immunosorbent assay for human carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8, a biological marker of granulocyte ativities in vivo. J Immunol Methods 293. 207- 214. (2004)

Danksagung

Bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Manfred Weiss bedanke ich mich für die Ermöglichung dieser Doktorarbeit. Danke für die Geduld, die Ratschläge und das stets offene Ohr.

Außerdem möchte ich dem Team der Experimentellen Anästhesiologie unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Marion Schneider danken. Ein besonderer Dank geht an Marion und Harald für die Anleitung, Betreuung und Hilfestellung im Labor. Vielen Dank an Janosch, mit dem das Arbeiten mehr Spaß machte.

Dir, Lina, möchte ich sehr danken für die gute Zusammenarbeit und die ständige Motivation. Ich konnte mich immer auf dich und deine ehrliche Art verlassen!

Zuletzt danke ich meiner Familie von ganzem Herzen. Nur mit eurer Liebe und Unterstützung habe ich das alles schaffen können.