

Aus dem Bereich für Nephrologie, Dialyse und Hochdruckkrankheiten  
(Leiterin: Frau Prof. Dr. med. S. Stracke)  
der Klinik für Innere Medizin A  
(komm. Direktorin: Frau Prof. Dr. med. S. Stracke)

**Nephrologische, neuro-psychologische, laborchemische und bildgebende  
Nachuntersuchung bei schwerem Verlauf einer Infektion mit EHEC O104:H4  
und Immunadsorptionstherapie**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2022

vorgelegt von:

Claudia Rasch

geb. am: 02.08.1989

in: Hoyerswerda

Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich  
1. Gutachter: Prof. Dr. Sylvia Stracke  
2. Gutachter: Prof. Dr. Frieder Keller  
Ort, Raum: Universitätsmedizin Greifswald, Seminarraum der Klinik  
für Innere Medizin A  
Tag der Disputation: 06. März 2023

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>VI</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>VII</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>IX</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1. EHEC-Epidemie 2011</b>	<b>1</b>
1.1.1. Zusammenfassung des Krankheitsverlaufs der Greifswalder Patienten	2
<b>1.2. Das Bakterium Escherichia coli</b>	<b>3</b>
1.2.1. Enterohämorrhagische und enteroaggregative Escherichia coli	5
<b>1.3. Thrombotische Mikroangiopathien</b>	<b>7</b>
1.3.1. Thrombotische-thrombozytopenische Purpura (TTP)	8
1.3.2. Das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS)	9
1.3.2.1. Diagnostik	13
1.3.2.2. Therapie des EHEC-HUS	13
1.3.3. Krankheitsverlauf mit Beginn der Immunadsorption bei den an der UMG behandelten Patienten	17
<b>1.4. Zytokine</b>	<b>17</b>
1.4.1. Interleukine	18
1.4.1.1. Interleukin 6	18
1.4.1.2. Interleukin 10	19
1.4.1.3. Interleukin 17A	20
1.4.2. Tumor Necrosis Factor	20
1.4.3. Interferone	21
1.4.4. Chemokine	21
<b>1.5. Matrix-Metalloproteinasen (MMPs)</b>	<b>22</b>
<b>1.6. Selektine</b>	<b>22</b>
1.6.1. E-Selektin (ELAM-1, CD62E)	22
<b>2. Fragestellung der Dissertation und deren Hintergrund</b>	<b>24</b>
<b>2.1. Fragestellung</b>	<b>25</b>
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>26</b>
<b>3.1. EHEC-Register</b>	<b>26</b>
3.1.1. Auswahl der Patientenproben	26

<b>3.2. Auswahl der Parameter</b>	<b>27</b>
<b>3.3. Patientenpopulation des 30 Monats-Follow-up</b>	<b>28</b>
<b>3.4. Methoden</b>	<b>28</b>
3.4.1. Kernspintomografie des Schädels	28
3.4.2. Internistische Untersuchung inklusive klinischer Chemie	29
3.4.3. Nierensonografie	29
3.4.4. Neurologische Untersuchung	31
3.4.5. Neuropsychologische Untersuchung	32
3.4.6. Zytokinbestimmung mittels ELISA und CBA FLEX Kit	33
<b>3.5. Statistik</b>	<b>37</b>
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Ergebnisse der Paraklinik</b>	<b>42</b>
<b>4.2. Ergebnisse der Zytokinbestimmung</b>	<b>45</b>
<b>4.3. Ergebnisse für das Adhäsionsmolekül sE-Selektin und die Matrix-Metalloproteinase MMP9 sowie dessen Inhibitor TIMP1</b>	<b>49</b>
<b>4.4. Betrachtung der Zytokine und der Paraklinik innerhalb der Patientengruppen mit und ohne neurologische Symptome</b>	<b>50</b>
<b>4.5. Gegenüberstellung der Wirkung von Plasmapherese und Immunadsorption</b>	<b>52</b>
4.5.1. Effekt der Plasmapherese auf die Konzentration der Entzündungsmediatoren	52
4.5.2. Effekt der Immunadsorption auf die Konzentration der Entzündungsmediatoren	55
4.5.3. Vergleich der Ergebnisse von Plasmapherese und Immunadsorption	58
<b>4.6. Zusammenfassung der Follow-up-Untersuchungen</b>	<b>59</b>
4.6.1. Kernspintomografie	63
4.6.2. Nierensonografie	63
4.6.3. Neurologische Untersuchung	63
4.6.4. Internistische Untersuchung	64
4.6.5. Neuropsychologische Untersuchung	65
<b>4.7. Exemplarische Fallbeispiele</b>	<b>65</b>
4.7.1. Fallbeispiel 1 = Patient No. 3	65
4.7.2. Fallbeispiel 2 = Patient No. 2	68

<b>5. Diskussion</b>	<b>72</b>
5.1. Paraklinik	75
5.2. Zytokine	76
5.3. Gegenüberstellung Plasmapherese und Immunadsorption	85
5.4. Follow-up-Untersuchung	87
5.5. Limitationen	90
5.6. Schlussfolgerung	92
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>94</b>
<b>7. Anhang</b>	<b>96</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>108</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	<b>124</b>
<b>Lebenslauf</b>	<b>125</b>
<b>Danksagung</b>	<b>126</b>

# Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1.1:** Verteilung der HUS-Inzidenzen in der Bundesrepublik Deutschland und elektronenmikroskopische Aufnahme des auslösenden Bakteriums EHEC O104:H4
- Abb. 1.2:** Auslösende und prädisponierende Faktoren, die an der Entstehung einer thrombotischen Mikroangiopathie beteiligt sind
- Abb. 3.1:** Sonografischer Normalbefund der rechten Niere
- Abb. 4.1:** Grafische Darstellung der Konzentration für Hämoglobin und niedrigsten Hämoglobinwert im Verlauf sowie für Hämatokrit
- Abb. 4.2:** Grafische Darstellung für die Anzahl an Thrombozyten sowie deren minimalste Anzahl im Verlauf
- Abb. 4.3:** Grafische Darstellung der Kreatininkonzentration und dessen maximale Kreatininkonzentration im Verlauf sowie die sich daraus ergebende eGFR als auch die niedrigste eGFR
- Abb. 4.4:** Grafische Darstellung der Konzentration der Laktatdehydrogenase und deren maximalste Konzentration im Verlauf
- Abb. 4.5:** Anzahl der Patienten mit Hämaturie
- Abb. 4.6:** Grafische Darstellung der Serumkonzentrationen der Interleukine und von sTNFR1
- Abb. 4.7:** Grafische Darstellung der Serumkonzentrationen der Chemokine
- Abb. 4.8:** Grafische Darstellung der Serumkonzentrationen der Entzündungsmediatoren sE-Selectin und MMP9, sowie des MMP9-Inhibitors TIMP1
- Abb. 4.9:** Korrelationsmatrix aller Parameter der Patientengruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) und deren p-Werte
- Abb. 4.10:** Korrelationsmatrix aller Parameter der Patientengruppe ohne neurologische Symptome (ONS) und deren p-Werte
- Abb. 4.11:** Darstellung der Serumkonzentrationen der Zytokine unter der Therapie mit Plasmapherese
- Abb. 4.12:** Darstellung der Serumkonzentrationen der Zytokine während der Immunadsorption

# Tabellenverzeichnis

- Tab. 1.1:** Charakteristika und Symptome der Greifswalder Patienten
- Tab. 1.2:** Erfolgte Behandlungen während der akuten Krankheitsphase
- Tab. 1.3:** Auszug aus dem Anhang für Zytokine aus Janeway Immunologie
- Tab. 1.4:** Auszug aus dem Anhang für Chemokine aus Janeway Immunologie
- Tab. 3.1:** Übersicht der durchgeführten neuropsychologischen Testbatterie
- Tab. 4.1:** Gegenüberstellung der Basisdaten der Patienten dieser Studie und des EHEC-Registers
- Tab. 4.2:** Gegenüberstellung der Basisdaten zwischen den Patientengruppen mit und ohne neurologische Symptome
- Tab. 4.3:** Art sowie absoluter und prozentualer Anteil der neurologischen Symptome
- Tab. 4.4:** Zusammenfassung der paraklinischen Werte
- Tab. 4.5:** Anzahl der zur Verfügung stehenden analysierten Proben
- Tab. 4.6:** Zusammenfassung der Serumkonzentrationen der Zytokine
- Tab. 4.7:** Zusammenfassung der Serumkonzentrationen von sE-Selectin, MMP9 und TIMP1
- Tab. 4.8:** Effekt der Plasmapherese auf die Serumkonzentrationen der pro- und antiinflammatorischen Zytokine
- Tab. 4.9:** Während der Plasmapherese-Therapie gemessenen Einzelwerte
- Tab. 4.10:** Effekt der Immunadsorption auf die Serumkonzentrationen der pro- und antiinflammatorischen Zytokine
- Tab. 4.11:** Unter Immunadsorption gemessene Einzelwerte der pro- und antiinflammatorischen Zytokine
- Tab. 4.12:** Gegenüberstellung der prozentualen Reduktion durch Plasmapherese im Vergleich zur Immunadsorption
- Tab. 4.13:** Zusammenfassung der Follow-up-Untersuchungen
- Tab. 4.14:** Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 1
- Tab. 4.15:** Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 2
- Tab. 4.16:** Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 3

- Tab. 4.17:** Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 4
- Tab. 4.18:** Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 6
- Tab. 5.1:** Zusammenfassung der Ergebnisse verschiedener Autoren von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen bei EHEC-HUS



# Abkürzungsverzeichnis

<b>Abb.</b>	Abbildung
<b>ADAMTS-13</b>	a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1 like domains
<b>allg.</b>	allgemein
<b>ANV</b>	akutes Nierenversagen
<b>AP1</b>	Aktivator-Protein-1
<b>BHS</b>	Blut-Hirn-Schranke
<b>Bds.</b>	beidseits
<b>cCT</b>	craniale Computertomografie
<b>CKD</b>	Chronic Kidney Disease
<b>DAEC</b>	diffuse adhärierende Escherichia coli
<b>DGfN</b>	Deutsche Gesellschaft für Nephrologie
<b>DD</b>	Differenzialdiagnose
<b>E. coli</b>	Escherichia coli
<b>EAEC</b>	enteroaggregative Escherichia coli
<b>EDTA</b>	ethylene diamine tetraacetic acid
<b>EEG</b>	Elektroenzephalografie
<b>EHEC</b>	Enterohämorrhagische Escherichia coli
<b>EIEC</b>	Enteroinvasive Escherichia coli
<b>ELAM</b>	endothelial leukocyte adhesion molecule
<b>ELISA</b>	Enzyme-linked immune assay
<b>EPEC</b>	Enteropathogene Escherichia coli
<b>ETEC</b>	Enterotoxinbildendes Escherichia coli
<b>GFR</b>	Glomeruläre Filtrationsrate
<b>GP</b>	Kinder mit entzündlichen und nichtentzündlichen Glomerulopathien
<b>Hb</b>	Hämoglobin
<b>HC</b>	hämorrhagische Colitis
<b>Hk</b>	Hämatokrit
<b>HUS</b>	hämolytisch-urämisches Syndrom
<b>IA</b>	Immunadsorption
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	Interferon- $\gamma$

<b>IfSG</b>	Infektionsschutzgesetz
<b>IGF</b>	Insulin-like growth factor
<b>IL-1</b>	Interleukin 1
<b>IL-6</b>	Interleukin 6
<b>IL-8</b>	Interleukin 8
<b>IL-10</b>	Interleukin 10
<b>k. A.</b>	keine Angabe
<b>KG</b>	Kraftgrad
<b>KGr</b>	Gesunde Kinder Kontrollgruppe
<b>Krea</b>	Kreatinin
<b>LDH</b>	Laktatdehydrogenase
<b>LEE</b>	locus of enterocyte effacement
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharide
<b>MHH</b>	Medizinische Hochschule Hannover
<b>MMP</b>	Matrix Metalloproteinasen
<b>MNS</b>	Patientengruppe mit neurologischen Symptomen
<b>MO</b>	mononukleäre Zellen
<b>MRT</b>	Magnetresonanztomografie
<b>n. m.</b>	nicht messbar
<b>NFκB</b>	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
<b>NGF</b>	nerve growth factor
<b>NK-Zellen</b>	Natürliche-Killer-Zellen
<b>OMP</b>	outer membrane proteins
<b>ONS</b>	Patientengruppe ohne neurologische Symptome
<b>PBS</b>	Phosphate buffered saline
<b>PCR</b>	Polymerase-Kettenreaktion
<b>PLT</b>	Thrombozyten
<b>PMN</b>	polymorphkernige Leukozyten
<b>PS</b>	Plasmapherese
<b>RI</b>	Resistive Index
<b>RKI</b>	Robert Koch-Institut
<b>STEC</b>	Shiga-like-Toxin produzierende Escherichia coli
<b>STx</b>	Shiga-Toxin
<b>Tab.</b>	Tabelle

<b>TE</b>	Echozeit
<b>TGF</b>	transforming growth factor
<b>TIMP</b>	tissue inhibitors of metalloproteinases
<b>TMA</b>	thrombotische Mikroangiopathie
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumornekrosefaktor $\alpha$
<b>TPE</b>	therapeutische Plasmapherese
<b>TR</b>	Repetitionszeit
<b>TTP</b>	thrombotische-thrombozytopenische Purpura
<b>u. a.</b>	unter anderem
<b>UMG</b>	Universitätsmedizin Greifswald
<b>UT</b>	Untertest
<b>VEGF</b>	Vascular Endothelial Growth Factor
<b>VTEC</b>	verotoxinproduzierendes Escherichia coli
<b>vWF</b>	von-Willebrand-Faktor
<b>z. B.</b>	zum Beispiel



# 1. Einleitung

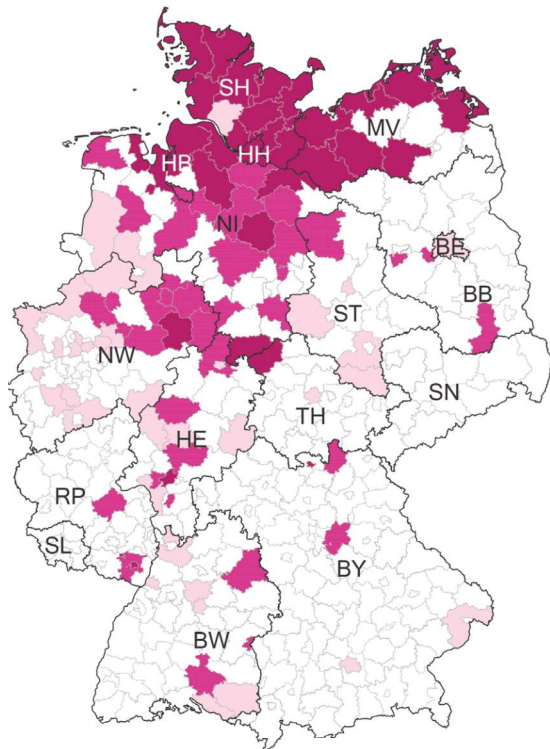
## 1.1. EHEC-Epidemie 2011

Im Jahr 2011 kam es in Deutschland von Anfang Mai bis Ende Juli zu einem erheblichen Anstieg von Erkrankungsfällen des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS) und blutiger Diarrhöen durch Infektionen mit *Escherichia coli* des Serotyps O104:H4 [1]. Der Höhepunkt der Erkrankungswelle wurde um den 21. und 22. Mai 2011 registriert [1], [21]. Insgesamt wurden dem RKI 855 Fälle von HUS und 2987 Fälle akuter Gastroenteritis übermittelt. Davon sind 53 Patienten verstorben, darunter 35 Patienten an den Folgen des hämolytisch-urämischen Syndroms und 18 EHEC-Erkrankte [1]. Es ist damit der bisher größte beschriebene EHEC-Ausbruch in Deutschland und HUS-Fällen weltweit [11]. Innerhalb der fünf Vorjahre von 2006 bis 2010 wurden im zu vergleichendem Zeitraum im Median 13 HUS-Fälle und 218 gastrointestinale Infektionen durch EHEC gemeldet [1]. In den vorangegangenen 15 Jahren wurde dagegen nur von einem einzigen Fall in Deutschland mit dem Nachweis von *E. coli* O104:H4 berichtet [10].

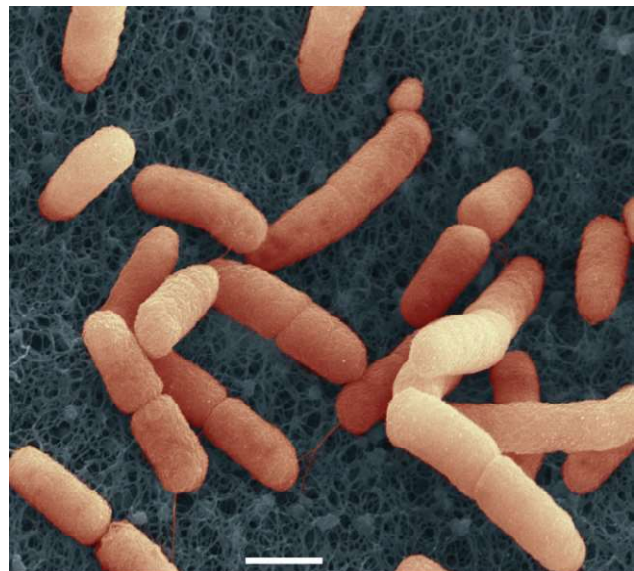
Unabhängig vom Ausbruchsgeschehen 2011 sind der Krankheitsverdacht, die Erkrankung und der Tod an HUS in Deutschland nach § 6 IfSG durch den Arzt, EHEC-Nachweise nach § 7 IfSG durch die nachweisenden Labore meldepflichtig [1]. Kriterien, welche zur Diagnose EHEC-Gastroenteritis führen, sind: Durchfall, Bauchkrämpfe oder Übelkeit und der positive Nachweis aus dem Labor. Ein HUS-Syndrom liegt vor, wenn eine Thrombozytopenie ( $PLT < 150 \text{ Gpt/L}$ ), hämolytische Anämie und ein akutes Nierenversagen (ANV) besteht. Letzteres ist gekennzeichnet von einem Anstieg des Serumkreatinins, Oligo- oder Anurie, Proteinurie oder Hämaturie. 2011 lag die Inkubationszeit bei acht Tagen. Die Zeitspanne zwischen dem ersten Auftreten von Durchfall und Symptomen des hämolytisch-urämischen Syndroms betrug fünf Tage [21].

Bis zum Ausbruchsgeschehen 2011 trat der jemals größte EHEC-HUS-Ausbruch bei Erwachsenen 1996 in Schottland auf [2]. Ungewöhnlich an dem Ausbruch 2011 war der hohe Anteil an erwachsenen Frauen, die betroffen waren [10], [19], [20]. Dieser lag bei 68 % in Bezug auf die EHEC-HUS-Fälle und bei 58 % für die EHEC-Fälle ohne HUS [1], [11]. Insgesamt waren 90 % der Patienten mit HUS Erwachsene [21]. Der Altersmedian der Patienten mit EHEC-Infektion lag bei 46 Jahren und bei EHEC-HUS-Patienten bei 42 Jahren. Im Vergleich zu den 696 Fällen von HUS, welche im

Zeitraum von 2001 bis 2010 gemeldet wurden, lag der Altersdurchschnitt deutlich höher. Als verantwortliches Vehikel des Infektionsgeschehens in dem Jahr 2011 wurden Sprossen ausgemacht. Das haben epidemiologische Studien des RKI und anderen Institutionen ergeben. In der gesamten Bundesrepublik Deutschland wurden Erkrankungsfälle beschrieben, allerdings zeigte sich eine deutlich stärkere Inzidenz in den nördlichen Bundesländern [1].



Karte der HUS-Inzidenz im Ausbruch



EHEC-Bakterien des Ausbruchsstammes O104:H4  
Raster-Elektronenmikroskopie. Maßstab: 1 µm  
Quelle: Holland, Laue (Robert Koch-Institut)

**Abb. 1.1:** Verteilung der HUS-Inzidenzen in der Bundesrepublik Deutschland und elektronenmikroskopische Aufnahme des auslösenden Bakteriums EHEC O104:H4 aus dem Abschlussbericht des RKI [1]

### 1.1.1. Zusammenfassung des Krankheitsverlaufs der Greifswalder Patienten

An der Universitätsmedizin Greifswald wurden im Rahmen der EHEC-Epidemie fünf Patienten mit der Erkrankung EHEC-HUS 2011 mit dem Verfahren der Immunadsorption behandelt. Aufgrund der Schwere der Verläufe und des Nichtansprechens auf die Therapie mit Eculizumab und therapeutischer Plasmapherese wurde von Greifswalder Ärzten entschieden, eine Behandlung mittels Immunadsorption durchzuführen. Nach erfolgreicher Therapie wurden auch

sieben Patienten an der Medizinischen Hochschule Hannover mit diesem Verfahren behandelt [22].

Alle Patienten zeigten zunächst Symptome der Enteritis auf. Im Verlauf kam es zu Zeichen der Nierenschädigung mit anschließendem Abfall der Thrombozyten auf unter 100 Gpt/L. Im Schnitt lag zwischen Beginn der Enteritis und dem Nierenversagen eine Woche, wohingegen der Thrombozytenabfall sich ungefähr vier Tage nach Beginn der gastrointestinalen Symptome und der Nierenfunktionsstörung zeigte. Das Nierenversagen zog bei vier der fünf in Greifswald mit Immunadsorption behandelten Patienten eine Dialyse nach sich [22].

Sechs Tage nach Einsetzen des Durchfalls wies der erste Patient neurologische Symptome auf. Die längste Zeitspanne lag bei neun Tagen. Die neurologischen Symptome reichten von Aphasie, Delir, Myoklonus und Bewusstseinsveränderungen bis zu epileptischen Anfällen, wobei nur bei einer Patientin im EEG einmalig eine Anfallsbereitschaft und Zeichen des Status epilepticus nachgewiesen werden konnte. Die Veränderungen, welche sich in den EEG-Untersuchungen zeigten, lagen in den allermeisten Fällen im mittelschweren Bereich unspezifischer Natur, teils mit subkortikalen Funktionsstörungen. Infolge der neurologischen Symptomatik war bei einigen Patienten eine künstliche Beatmung notwendig. Trotz der Plasmapheresebehandlung, die alle fünf Patienten aus Greifswald erhielten, kam es zu keiner Besserung der neurologischen Symptome. Auch die Gabe von Eculizumab änderte nichts an diesem Zustand. (siehe auch Tab. 1.1 und Tab. 1.2 im Anhang)

Bildmorphologisch über die MRT- als auch die CT-Diagnostik konnte bei keinem der Patienten ein pathologisches Korrelat für die neurologische Symptomatik nachgewiesen werden. Bei zwei von fünf Patienten bestand der Verdacht auf eine Leukencephalopathie, der sich aber im Verlauf nicht erhärtete. Es gab insbesondere keinen Anhalt für eine Mikrozirkulationsstörung, eine Vaskulitis oder einen ischämischen Infarkt. Lediglich bei einer Patientin wurde eine kleine Stammganglienblutung und eine diskrete SAB, DD Siderose nachgewiesen.

## **1.2. Das Bakterium Escherichia coli**

Theodor Escherich berichtete erstmals 1885 über E. coli als ein spezifisches Darmbakterium. Hierbei können verschiedene Stämme bezüglich der Pathogenität unterschieden werden, wobei eine Unterscheidung zwischen apathogenen, fakultativ pathogenen und obligat pathogenen Stämmen getroffen wird. Die apathogenen und

fakultativ pathogenen *E. coli*-Stämme kommen natürlicherweise im Darm von Warmblütlern vor. Sowohl die fakultativ als auch die obligat pathogenen Stämme charakterisieren sich durch bestimmte Virulenzfaktoren [3], [53]. So ist beispielsweise der K12-Stamm apathogen, wohingegen EHEC ein pathogener Stamm ist. Durch eine Insertion von Pathogenitätsgenen in sein Chromosom kommt es zu einer hämorrhagischen Diarrhöe [4].

*E. coli* gehört zu der Gattung der Enterobacteriaceae und stellt die wichtigste Spezies dar [5]. Es handelt sich um ein gramnegatives Bakterium und zeichnet sich durch folgenden Aufbau aus: Die Zellhülle ist ein dreischichtiges System. Sie besteht aus einer äußeren und inneren Membran und einem dazwischenliegenden flüssigen Zellkompartiment. Die äußere Membran setzt sich aus Phospholipiden, Proteinen (OMP) und Lipopolysacchariden (LPS) zusammen. Die LPS wiederum lassen 3 makromolekulare Anteile erkennen, zu denen O-Antigen, Kernpolysaccharid und Lipid A zählen. Die O-Antigene bestimmen die Oberflächenhydrophilie eines Bakteriums [3]. Sie dienen außerdem serologischen Laborverfahren zur Differenzierung zwischen den einzelnen Spezies und Serovar. Weitere Antigene, die dafür genutzt werden, sind die H-, F-, K- und OMP-Antigene [5]. *E. coli*-Bakterien sind aufgrund von Flagellen beweglich. Die Begeißelung wird mit den H-Antigenen beschrieben [3].

Die verschiedenen pathogenen *E. coli*-Stämme können sowohl intestinale als auch extraintestinale Infektionen verursachen. Zu den häufigsten extraintestinalen Manifestationen gehören urogenitale Infektionen wie eine Urethritis, Zystitis und Pyelonephritis mit der möglichen Gefahr der Entwicklung einer Urosepsis. Weitere Manifestationen können Wundinfektionen, Entzündungen im Bauchraum und nosokomiale Pneumonien sein. Bei Neugeborenen führt eine Infektion mit *E. coli* nicht selten zu einer Meningitis. Mit 30 % ist *E. coli* der häufigste gramnegative Sepsiserreger [3], [53]. Extraintestinal pathogene *E. coli* besitzen spezielle Virulenzfaktoren, wie beispielsweise Kapsel-Antigene, Hämolysine und oder Fimbrien [53].

Davon zu trennen sind sechs Stämme, die intestinale Infektionen bedingen können, sogenannte intestinal pathogene *E. coli*. Dazu zählen diffus adhärierende *E. coli* (DAEC), enteropathogene *E. coli* (EPEC), enterotoxinbildende *E. coli* (ETEC), enteroinvasive *E. coli* (EIEC), enteroaggregative *E. coli* (EAEC) und enterhämorrhagische *E. coli* (EHEC). Letztgenanntes ist auch bekannt als



verotoxinproduzierendes *E. coli* (VTEC) oder Shiga-like-Toxin produzierende *E. coli* (STEC). Bei ausreichender Keimlast kommt es zum Krankheitsausbruch [53]. Die ausgelösten Erkrankungen führen zu Durchfällen, vor allem bei Kindern durch die EPEC- und DAEC-Stämme oder als sogenannte Reisediarrhöe durch eine Infektion mit ETEC in tropischen Ländern in allen Altersstufen. Wässrige Durchfälle entstehen vornehmlich durch EAEC. Ein Krankheitsbild ähnlich der bakteriellen Ruhr mit Tenesmen und Fieber ist durch EIEC bedingt [5]. Die verschiedenen Virulenzfaktoren, die die einzelnen Pathotypen besitzen, können über einen horizontalen Transfer ausgetauscht werden [53].

### **1.2.1. Enterohämorrhagische und enteroaggregative *Escherichia coli***

Die durch den EHEC-Stamm ausgelöste Erkrankung ist geprägt durch eine hämorrhagische Kolitis mit akut einsetzenden Durchfällen, welche wässrig bis blutig sein können. Krämpfe und Erbrechen sind begleitend möglich. Damit ist nach Infektion mit Salmonellen zusammen mit *Campylobacter*, der EHEC-Stamm die zweithäufigste Ursache für bakterielle Enteritiden in Deutschland [61]. Als Komplikation kann es zum hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) kommen [5], [7] [61].

EHEC ist meist im Darm von Wiederkäuern zu finden, insbesondere bei Schafen, Rindern und Ziegen [54]. Allerdings zeigten Untersuchungen auch das Vorkommen von EHEC bei Wildtieren und Insekten. Die Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel wie Rohmilchprodukte, Fleischwaren und Gemüse kann bereits bei sehr niedrigen Infektionsdosen von 10 bis 100 Keimen zur Erkrankung führen [3], [7]. Trotz zum Teil asymptomatischer Verläufe, kann es vor allem bei Kindern, älteren Menschen und Immunsupprimierten zur Entwicklung eines HUS kommen. Neben kontaminierten Lebensmitteln spielen bei der Infektion mit dem Bakterium auch die Übertragung von Mensch zu Mensch und ein direkter Tierkontakt durch Schmierinfektion eine Rolle [7], [54].

Gemäß dem IfSG werden humanpathogene STEC, die in der Lage sind Shiga-Toxin zu produzieren, als enterohämorrhagischer *E. coli* bezeichnet [57]. Damit stellt EHEC eine für den Menschen pathogene Untergruppe dar [55], [56]. Das Toxin richtet sich unter anderem gegen eine Zelllinie aus Affennierenzellen. Dabei können zwei Varianten des Toxins, STx-1 und STx-2, voneinander abgegrenzt werden, wobei Stx-1 identisch mit dem Shiga-Toxin von *S. dysenteriae* ist [5], [7], [55]. Selten werden

diese Toxine von anderen Shigellen produziert [62]. Als HUSEC werden die Stämme beschrieben, die die Möglichkeit besitzen bestimmte STx-Subtypen zu bilden, was zu einer gesteigerten Virulenz führt. Sie sind in der Lage ein HUS auszulösen [58-60]. Bis 2011 war der Serotyp O157:H7 der häufigste Auslöser für ein HUS [55].

EHEC zeichnet sich neben den oben genannten Shiga-Toxinen, deren Gene auf Bakteriophagen lokalisiert sind, durch verschiedene Virulenzfaktoren aus [55]. Hierzu zählt unter anderem die Pathogenitätsinsel LEE [63]. Die darauf lokalisierten Gene, wie auch das Gen Intimin (*eaeA*), sind für eine sichere Adhäsion an den Darmepithelzellen notwendig [7], [64], [65]. Darüber hinaus sind auf der Pathogenitätsinsel LEE auch noch weitere Proteine für die Adhäsion lokalisiert [61]. Außerdem sind EHEC in der Lage plasmidcodiert Hämolyisin und Katalase/Peroxidase zu synthetisieren [5]. Ein weiterer möglicher Virulenzfaktor stellt eine Serinprotease dar, welche die Blutgerinnung beeinflussen kann [61].

EAEC zeichnet sich durch eine hohe Aggregationsfähigkeit und Biofilmbildung aus. Im Gegensatz zu EHEC ist das Reservoir allerdings der Mensch [9]. Die Folge einer Infektion sind meist länger andauernde oder gar chronische Durchfälle, aber auch akut einsetzende wässrige Durchfälle mit Fieber und Tenesmen können auftreten. EAEC ist für 5 % der bakteriell bedingten Durchfallerkrankungen verantwortlich. Die Übertragung erfolgt durch Schmierinfektion oder verunreinigte Nahrung [3]. Zu den wichtigsten Virulenzfaktoren von EAEC zählen unter anderem spezielle Fimbrien (AAF = aggregative adherence fimbriae), die der Adhäsion dienen [42], [66]. Die Expression dieses Gens wird von dem Transkriptionsfaktor AggR reguliert [67].

Bei dem im Jahr 2011 für den Ausbruch verantwortlichen Serotyp EHEC O104:H4 handelt es sich um einen seltenen Hybridtyp mit Charakteristika von EHEC und EAEC [3], [17]. Molekularbiologisch konnte man den Ausbruchsstamm identifizieren und den Multilocus-Sequenztyp ST678 zu ordnen [10], [60]. Der Erreger kombiniert dabei Eigenschaften verschiedener Pathotypen aufgrund der hohen Genomplastizität von *E. coli* [9]. Es lassen sich sowohl für EHEC als auch für EAEC typische Virulenzfaktoren nachweisen [10], [17]. Somit sind zum einen die Eigenschaft zur Synthese des Shiga-Toxins (STx-2) und zum anderen die Eigenschaften von EAEC vorhanden. Die Kombination der Merkmale der beiden Pathotypen lässt darauf schließen, dass sich hierdurch ein neuer Pathotyp Entero-Aggregative-Hämorrhagischer *Escherichia coli* (EAHEC) gebildet hat [17]. Obwohl der EHEC

O104:H4-Ausbruchsstamm genomisch zu 90 % mit einem EAEC O104:H4 identisch ist, wird dieser aufgrund der Möglichkeit ein hämolytisch-urämisches Syndrom durch das Shiga-Toxin auslösen zu können, als EHEC klassifiziert [9].

Die Schwere der Verläufe ist vor allem auf die Aggressivität des Erregers durch seine Virulenzfaktoren zurückzuführen. Diese ist bedingt durch das nachgewiesene STx-2 [21]. Hierbei handelt es sich um eine Variante des Shiga-Toxins (STx-2a), die in Deutschland zuvor nur aus einem einzigen Stamm STEC O157:H- isoliert werden konnte [70]. Es bestehen außerdem zusätzliche Virulenz- und Antibiotikaresistenzfaktoren [10], [68], [69]. So zeigte sich, dass EHEC O104:H4 eine Resistenz gegenüber Beta-Laktam-Antibiotika der Acylaminopenicilline und Cephalosporine besitzt [10]. Für Carbapeneme besteht hingegen eine Sensibilität. Ein Plasmid codiert für eine extended-Spektrum Beta-Laktamase vom Typ CTX-M-15 und für eine Beta-Laktamase des Typs TEM-1 [10], [17], [68]. Des Weiteren konnten die für EAEC typischen Virulenzfaktoren zur Ausbildung spezieller Fimbrien (AAF) sowie weitere Faktoren nachgewiesen werden [10]. Allerdings ließ sich in keiner der Isolate das für EHEC typische Gen eae, welches für Intimin codiert, finden [59]. Unter den mit HUS assoziierten EHEC-Stämmen sind lediglich 5 % eae-negativ [9], [59].

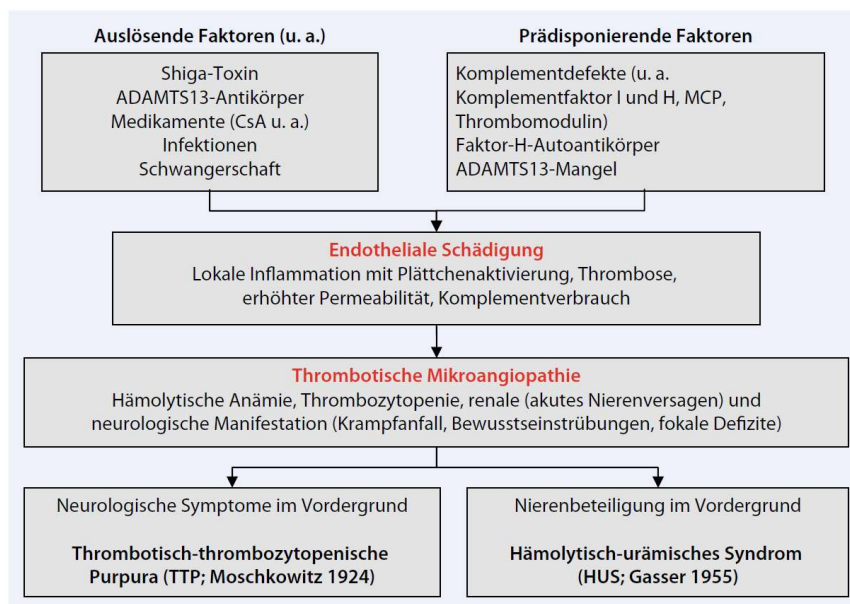
Der 2011 ermittelte Serotyp wurde zuvor nur einmal in Deutschland bei einem Patienten mit HUS im Jahr 2001 isoliert [60]. Ein weiterer Fall ist aus Korea bekannt [69]. Bis 2011 wurden zu zwei Dritteln die Serotypen O157:H7 und O157:H- (unbewegliche Stämme) isoliert. Das Konsiliarlaboratorium HUS des Universitätsklinikums Münster konnte den Ausbruchsstamm dem HUSECO41-Referenzstamm aus dem Jahr 2001 zuordnen [9]. Dieser Stamm konnte erneut im September 2015 bei einem Patienten mit HUS aus Nordrhein-Westfalen nachgewiesen werden. Der Aufenthaltsort des Erregers, d.h. sein Reservoir ist weiter unbekannt. Ein Nachweis ist bisher weder in Lebensmitteln noch in Tieren möglich gewesen [18].

### **1.3. Thrombotische Mikroangiopathien**

Das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) gehört zusammen mit der thrombotischen-thrombozytopenischen Purpura (TTP) zu den thrombotischen Mikroangiopathien (TMA). Die Entstehung der TMA ist durch eine Endothelzellschädigung bedingt, was zu einem Verschluss der kleinen und kleinsten Gefäße führt [12]. In Abb. 1.2 sind verschiedene auslösende und prädisponierende

Faktoren für beide Formen der TMA dargestellt. Beide Krankheitsbilder unterscheiden sich in ihrer Pathogenese voneinander [22]. Klinisch kennzeichnend sind bei den TMAs eine Thrombozytopenie, eine Coombs-negative hämolytische Anämie mit Bildung von Fragmentozyten, eine Schädigung der Nieren mit akutem Nierenversagen und neurologischen Symptomen wie Kopfschmerzen, Agitation, Psychose, Desorientiertheit, Paresen, Krämpfe, fokale neurologische Defizite und Koma [12], [19], [45], [72].

Prinzipiell wird zwischen einer TMA mit bekannter Pathogenese und einer TMA mit bekannter klinischer Assoziation jedoch ohne Kenntnisse der genauen Pathogenese unterschieden. Zum letztgenannten zählen beispielsweise HIV, systemischer Lupus erythematodes mit Angiophospholipid-Antikörpern oder auch das HELLP-Syndrom [12]. Die durch das Shiga-Toxin ausgelöste thrombotische Mikroangiopathie wird den Formen mit bekannter Pathogenese zugeordnet [12]. Dies wird auch als Durchfall assoziiertes (D+ HUS) oder typisches HUS, nach neuer Empfehlung allerdings als STEC-HUS, bezeichnet [11], [82], [83].



**Abb. 1.2:** Auslösende und prädisponierende Faktoren, die an der Entstehung einer thrombotischen Mikroangiopathie beteiligt sind [11]

### 1.3.1. Thrombotische-thrombozytopenische Purpura (TTP)

1924 wurde von Eli Moschcowitz das Krankheitsbild der TTP erstmals beschrieben [71]. Der Begriff selbst wurde erst 1947 geprägt [73]. Hierbei wird zwischen primären, die hereditärer oder idiopathischer Genese sein können, und sekundären Formen unterschieden [76]. Pathophysiologisch liegt der TTP ein Mangel oder vollständiges

Fehlen an ADAMTS-13 (a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1 like domains) vor. Im Rahmen einer Antikörperbildung gegen die Protease kommt es zu einer reduzierten Aktivität [81]. Aufgrund dessen vermindert sich der Abbau der Multimere des von-Willebrand-Faktors, was zu ultralangen Multimeren führt. Die ultralangen Multimere sind wiederum dafür verantwortlich, dass sich Thromben in Arteriolen und Kapillaren bilden [77-80]. Im Vergleich zum HUS steht hierbei die neurologische Symptomatik im Vordergrund. Die neurologischen Symptome können sehr vielfältig sein und betreffen je nach Literatur ca. 60 % bis über 90 % der an TTP erkrankten Patienten [74], [75]. Zu einer Einschränkung der Nierenfunktion kommt es in aller Regel nicht [97], [98].

### **1.3.2. Das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS)**

Das HUS gehört neben der TTP zu den zwei häufigsten Ursachen einer TMA [133]. Trotz des ähnlichen klinischen Bildes zur TTP liegt dem HUS ein anderer Pathomechanismus zu Grunde. Lange Zeit unterschied man zwischen der enteropathischen Diarrhoe-assoziierten Form, welche auch als typisches HUS (D+ HUS) bezeichnete wurde und dem atypischen HUS (D- HUS), einer Form ohne Diarrhoe. Nach einer neuen internationalen Empfehlung und aufgrund neuer pathophysiologischer Erkenntnisse sowie Weiterentwicklung von Therapien werden die Formen des HUS in STEC-HUS, komplementvermitteltem HUS und weiteren HUS-Formen gegliedert [82], [83].

Das komplementvermittelte HUS tritt insgesamt eher selten auf und betrifft ca. 5 bis 10 % der pädiatrischen Patienten [82], [84]. Dabei kommt es aufgrund einer Dysregulation der Aktivierung des alternativen Komplementweges zu einer Schädigung von Endothelzellen in verschiedenen Organen, insbesondere aber in den Nieren. Hierbei kann es sich entweder um erworbene oder genetisch bedingte Regulationsstörungen handeln [85], [86].

Zu den weiteren Formen des HUS zählen neben seltenen angeboren Ursachen unter anderem auch das Pneumokokken-assoziierte hämolytisch-urämische Syndrom, bei dem es durch die Pneumokokken zur Bildung der N-Acetyl-Neuraminidase und dadurch zur Freilegung des T-Antigens kommt, was eine Polyagglutination und HUS auslöst [82], [87], [88].

Bis zum Ausbruch im Jahr 2011 waren in Deutschland vor allem Kinder von STEC-HUS betroffen [9]. Eine Erklärung hierfür ist unter anderem, dass das Darmepithel

von Kindern eine höhere Rezeptordichte aufweist und es daher stärker zu einer Adhäsion kommen kann [5]. STEC-HUS wird im Kindes- und Jugendalter in 90 % der Fälle durch eine Infektion mit enterohämorrhagischen E. coli, welche in der Lage sind Shiga-Toxin zu produzieren, verursacht [82], [84]. Der dabei weltweit am häufigsten nachgewiesene Serotyp ist, wie bereits erwähnt, O157:H7 [11]. Das primäre Ziel des Shiga-Toxins sind Endothelzellen [89]. Eine Bindung an Kolonepithelzellen, renalen Epithelzellen, Mesangialzellen, Monozyten, Erythrozyten, Thrombozyten und Granulozyten ist auch möglich [11], [12]. Das Shiga-Toxin gehört zu den AB<sub>5</sub>-Holotoxinen, mit einer enzymatischen A-Untereinheit und der pentameren B-Untereinheit, wobei die B-Untereinheit an das Glykosphingolipid Globotriaosylceramid (Gb3, Gb3Cer) bindet [3], [90], [91]. Es zeigt dabei denselben strukturellen Aufbau wie das Cholera-toxin und das Enterotoxin von E. coli [15]. Vor allem das STx-2 ist in der Lage, schwere Verläufe durch eine EHEC-Infektion mit HUS und ZNS-Beteiligung hervorzurufen [92], [93]. Allerdings ist nicht genau geklärt, wie das Shiga-Toxin vom Darmlumen in die Mikrozirkulationsstrombahnen der anderen Organe, insbesondere der Nieren und des Hirns gelangt [105]. Nach der Bindung an den Gb3-Rezeptor erfolgt die Aufnahme in die Zelle über Endozytose, gefolgt von einem retrograden Transport zum Golgi-Apparat und in das endoplasmatische Retikulum. Folgend wird die A-Untereinheit freigesetzt und bewirkt durch die N-Glykosidase-Aktivität die Inaktivität eukaryotischer Ribosomen, was zur Hemmung der Proteinbiosynthese und letztendlich zur Apoptose führt [94], [95]. Der Gb3-Rezeptor wird von einigen eukaryotischen Zellen exprimiert [91]. In einem Mausmodell konnte außerdem gezeigt werden, dass der Rezeptor auch an neuronalen Zellen vorkommt [96]. In einer anderen Arbeit wiederum konnte der Rezeptor nicht auf Neuronen oder Gliazellen nachgewiesen werden [37]. Er ist auch auf Mesangium- und Endothelzellen zu finden sowie auf Podozyten der Glomeruli und Zellen des proximalen Tubulus [91]. Die Einwirkung des Shiga-Toxins führt zu einer Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 und IL-8 in den Epithelzellen [12], [99]. Ganz allgemein haben die einzelnen Zytokine auf jedes einzelne Organsystem und die verschiedenen Zielgewebe unterschiedliche Auswirkungen [72]. Es konnte in einem Tiermodell und anderen Studien gezeigt werden, dass es zu einer deutlichen Hochregulation von TNF $\alpha$ , CXCL8/IL-8, IL-6 und PDGF sowie anderer Zytokine kommt [106-108]. TNF $\alpha$  führt dabei unter anderem zu einer gesteigerten Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke (BHS), Schädigung von

Endothelzellen und induziert den Untergang/Nekrosen von Myelin und Oligodendrozyten [109], [110]. Zusätzlich bewirkt es eine gesteigerte Bildung und Aktivierung des Gb3-Rezeptors [111], [112].

Es konnte gezeigt werden, dass niedrigere STx-Spiegel zum Auslösen einer Entzündungsreaktion ausreichend sind als zur direkten Zellschädigung. Aufgrund der Entzündungsreaktion kommt es zur Induktion von Adhäsionsmolekülen für Leukozyten und damit zur Aktivierung eines prothrombotischen Zustandes [113]. Dabei spielt die Schädigung der Endothelzellen unter anderem eine Rolle [55]. Die pathologischen Veränderungen, die zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems führten, konnten in histopathologischen Befunden nachvollzogen werden. Unter anderem zeigten sich glomeruläre Thrombosen, thrombosierte Arteriolen und kapilläre Wandverdickungen. Auch im zentralen Nervensystem konnten diese nachgewiesen werden [89], [114-116]. Zusätzlich zeigten sich neben Fibrinthromben auch mikroskopisch sichtbare Blutungen [37].

Es kommt außerdem zur Entstehung von Thrombozyten/Granulozyten-Komplexen mit der Folge einer Komplementaktivierung. Die Komplementaktivierung spielt wahrscheinlich eine entscheidende Rolle [100].

Etwa 40 Glykoproteine, die in der Leber synthetisiert werden, stellen das Komplementsystem dar. Die Aktivierung erfolgt auf verschiedene Weise, unter anderem durch Antikörper, Viren oder andere Mikroorganismen. Es werden durch proteolytische, kaskadenartige Prozesse unterschiedliche Komponenten des Komplementsystems gespalten und aktiviert, wobei die gemeinsame Endstrecke der einzelnen Komplement-Wege die Spaltung von C5 ist [52].

Das Shiga-Toxin aktiviert das Komplementsystem über den alternativen Weg. So konnte gezeigt werden, dass die Bindung von C3 und C9 an Zellaggregate durch das STx vermittelt wird und es außerdem die Aktivierung von C3 induziert. Durch die Hemmung von Regulatorproteinen wie Faktor H kann es zur Bildung terminaler Komplementkomponenten beitragen. Die Aktivierung des Komplementsystems zieht eine Entzündungsreaktion nach sich. In Kombination mit den Endothelschäden führt dies zu Gefäßverschlüssen [11], [12], [100].

Klinisch manifestiert sich eine EHEC-Infektion in den überwiegenden Fällen mit einer wässrigen Diarrhöe, die auch mal in eine blutig-wässrige Kolitis übergehen kann.

Fieber, Übelkeit und Erbrechen sowie Bauchkrämpfe sind Begleitsymptome, welche vor allem bei Kindern bekannt sind. Die Inkubationszeit liegt bei einem bis acht Tagen, bis es zum Einsetzen des Durchfalls nach einer Infektion mit EHEC kommt. Bei Erwachsenen verläuft eine EHEC-Infektion meist asymptomatisch oder mit einem wässrigen Durchfall, welcher selbstlimitierend ist und von anderen Durchfallerkrankungen klinisch nicht unterschieden werden kann. Kommt es zum Auftreten einer blutig-wässrigen Kolitis, steigt das Risiko sowohl für intestinale als auch für extraintestinale Komplikationen. Intestinale Komplikationen, vor allem bei Säuglingen, sind eine nekrotisierende Kolitis und eine Darminvagination. Zu den extraintestinalen Komplikationen zählt das HUS, was vor allem bei Kindern oder älteren Menschen beobachtet wird. 5 - 10 % der mit EHEC infizierten Kleinkinder entwickeln ein hämolytisch-urämisches Syndrom [61]. Zum ersten Mal beschrieben wurde das Krankheitsbild des HU-Syndroms bei Kindern in den 1960er-Jahren [66]. Ein hämolytisch-urämisches Syndrom entwickeln 2 - 7 % der Betroffenen mit einer EHEC-Infektion, in einigen Fällen bis zu 30 % [103], [104]. EHEC-HUS war bis 2011 in der Erwachsenenephrologie nahezu unbekannt. Die oben bereits genannte Symptomtrias des HUS besteht aus hämolytischer Anämie, Thrombozytopenie sowie akuten Nierenversagen und zeigt sich meist eine Woche nach Beginn der gastrointestinalen Symptomatik [54]. Damit ist vor allem im Kindesalter HUS die häufigste Ursache für ein akutes Nierenversagen und dauerhaft eingeschränkter Nierenfunktion mit der Notwendigkeit einer chronischen Nierenersatztherapie [43], [92]. Klinisch kennzeichnend sind ein reduzierter Allgemeinzustand, blasses Hautkolorit oder Ikterus, Bauchschmerzen und Petechien. Ödeme, arterielle Hypertonie und Proteinurie und/oder Hämaturie können im Rahmen des ANV auftreten. Laborchemische Veränderungen werden unter dem Punkt Diagnostik abgehandelt.

Komplikationen im Rahmen des HUS betrifft ca. die Hälfte der Patienten. Die schwerwiegendsten und Mortalität steigernden Komplikationen sind vor allem extraintestinale Komplikationen, wie in 2 - 10 % der Fälle ein terminales Nierenversagen und neurologische Ausfälle. Die Mortalität des HUS liegt bei 3 - 5 % [61], [92].

Bei 20 % der Patienten kommt es im Verlauf eines HUS zur Ausbildung neurologischer Symptome [32], [40], [102]. Die Angaben in der Literatur schwanken hierzu allerdings zwischen 3 - 48 % [38], [39], [41], [43]. Mögliche neurologische



Symptome wurden bereits unter dem Punkt 1.3. Thrombotische Mikroangiopathien aufgelistet. Die Symptome treten im Schnitt 5 Tage nach dem ersten Durchfall auf [19], [39]. Nicht immer sind die neurologischen Symptome vollständig regredient und teils auch für einen letalen Ausgang verantwortlich [38], [40], [41].

#### **1.3.2.1. Diagnostik**

Neben den bereits erwähnten Symptomen, die für eine TMA sprechen, sind vor allem blutige Diarrhöen hinweisend auf ein infektassoziertes HUS. Zu den laborchemischen Veränderungen zählen ein Abfall der Thrombozyten auf unter 150 Gpt/L und des Hämoglobinwertes mit Nachweis von Fragmentozyten (Coombs-negative Hämolyse) und des Haptoglobinwertes, sowie ein Anstieg der Nierenretentionswerte und der Laktatdehydrogenase. Die ADAMTS-13-Aktivität ist differenzialdiagnostisch zur Abgrenzung der TTP ebenfalls zu bestimmen und weist einen Normalbefund auf [12], [61], [92]. Zusätzlich muss bei Verdacht auf eine EHEC-Infektion eine Stuhluntersuchung durchgeführt werden. Diese sollte allerdings möglichst zu Beginn der Erkrankung erfolgen, da es relativ rasch zu einem Absinken der Erregerzahl kommt. Der Nachweis des Shiga-Toxins mittels eines ELISA ist dabei ein unverzichtbarer Schritt. Mithilfe einer PCR können bestimmte Gene nachgewiesen werden, die Rückschlüsse auf einen pathogenen E. coli in einem Keimgemisch zulassen. Steht der Verdacht aufgrund einer positiven PCR, so ist eine Isolierung in einer kulturellen Anzucht notwendig [23]. Die sonografische Untersuchung der Nieren stellt die primäre bildgebende Diagnostik dar. Die hierbei zu verzeichnende veränderte Echogenität und Vergrößerung der Nieren werden als Ausdruck einer akuten Nierenschädigung angesehen [27].

#### **1.3.2.2. Therapie des EHEC-HUS**

Es gibt verschiedene Therapieansätze wie EHEC-HUS behandelt werden kann. In der Kinder- und Jugendmedizin ist die Standardtherapie eine unterstützende Therapie, d. h. ein gutes Flüssigkeits- und Elektrolytmanagement steht dabei im Vordergrund. Dialyse oder eine künstliche Beatmung können bei komplikativen Verläufen notwendig werden [117]. Es hat sich gezeigt, dass der Einsatz von Nierenersatzverfahren das Outcome der Patienten mit HUS verbessert. Als Dialyseverfahren kann dabei sowohl eine Peritonealdialyse als auch eine Hämodialyse zum Einsatz kommen [25]. Während der Epidemie 2011 wurden

allerdings nur wenige Patienten rein supportiv behandelt, was an der Schwere der Erkrankung lag [11]. Auch, dass EHEC-HUS in der Erwachsenenephrologie bisher eher unbekannt war, spielte eine Rolle für den unverhältnismäßig häufigen Einsatz von Plasmaaustausch und Komplementantikörpergaben (Eculizumab). Regelmäßige Kontrollen von Hämoglobin, Fragmentozyten, Hämatokrit, Nierenretentionsparametern und Thrombozyten sind in jedem Fall ebenso notwendig. Das Ausmaß der Hämolyse kann anhand der LDH und des Haptoglobins kontrolliert werden. Im Rahmen der Anämie kann es notwendig werden, Erythrozytenkonzentrate zu transfundieren. Thrombozytenkonzentrate sind dagegen kontraindiziert und sollten nur in Ausnahmefällen gegeben werden, z. B. vor Operationen. Bei Blutungen sollten sie eher vermieden werden, aufgrund des möglichen Risikos Mikrothromben zu bilden [25], [55], [92]. Einer möglichen Hypertension sollte ebenfalls begegnet werden, wobei der Plasmaaustausch eine Rolle spielen kann [25].

Bei der Behandlung des atypischen HUS war der Plasmaaustausch 2011 ein gängiges Therapieverfahren [119]. Zu Beginn der Epidemie im Jahr 2011 wurde von der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie (DGfN) ein therapeutischer Plasmaaustausch gegen humanes Frischplasma für Patienten mit Hämolyse und renalen und/oder neurologischen Komplikationen empfohlen. Von der DGfN wurde aber auch unmissverständlich festgestellt, dass die Empfehlung nicht durch kontrollierte Studien unterstützt wird [11], [118].

Das Prinzip der Plasmapherese liegt in der Auftrennung des Blutes in seine zellulären sowie plasmatischen Komponenten, was mittels Membranen oder Zentrifugentechnik erfolgt. Anschließend wird das abgetrennte Plasma mit den darin befindlichen schädlichen Substanzen verworfen und durch Fresh Frozen Plasma, z. B. bei der TTP und bei Blutungsneigung (= Plasmaaustausch oder therapeutischer Plasmaersatz, TPE) oder durch Humanalbumin- oder Elektrolytlösungen bei allen anderen Indikationen (= Plasmapherese oder Plasmaseparation) ersetzt. Neben der TTP und dem atypischen HUS sind die IgA-Vaskulitis, das Goodpasture-Syndrom oder die IgA-Nephritis weitere Indikationen für eine Plasmapherese [120-122]. Die zellulären Blutbestandteile werden dem Patienten unverändert wieder zugeführt.

1996 gab es in Schottland den bis 2011 größten beschriebenen EHEC-HUS-Ausbruch bei Erwachsenen. Damals waren insgesamt 22 Erwachsene betroffen. Das

Durchschnittsalter lag mit 71 Jahren deutlich höher als bei dem Ausbruch im Jahr 2011. 16 Patienten erhielten einen Plasmaaustausch. 6 der Patienten erlagen vor dem Therapiebeginn der Erkrankung. 5 der 16 Patienten, die einen Plasmaaustausch erhielten, starben im Verlauf [123]. Eine statistische Analyse war aufgrund der kleinen Fallzahl nicht möglich und auch sonst gibt es nur einzelne Fälle, die über den Nutzen des Plasmaaustauschs berichten. Da die Erkrankung häufiger bei Kindern auftritt, sind Erfahrungen hier größer. Ein langfristiger Nutzen konnte in mehreren Studien nicht nachgewiesen werden [11]. Auch nach 2011 ist der therapeutische Nutzen des Plasmaaustauschs bei EHEC-HUS fraglich. Es konnte jedoch festgestellt werden, dass die vorherige Gabe von Glukokortikoiden keinen signifikanten Unterschied bringt [24].

Eine antibiotische Therapie kann nicht zweifelsfrei empfohlen werden. Bis zur Epidemie 2011 war dies eigentlich keine Therapieoption. Die Begründungen lagen darin, dass durch Gabe von Antibiotika es zu einer Steigerung der Produktion und Freisetzung von Shiga-Toxin und zu einer Veränderung der normalen Darmflora kommen kann [11], [25]. Dies würde das Wachstum von EHEC zusätzlich begünstigen. Die Bedenken der Antibiotikatherapie fußten vor allem auf der Arbeit von Wong et al. aus dem Jahr 2000 [124]. In nachfolgenden unterschiedlichen Studien konnte zum einen kein Zusammenhang zwischen der Entwicklung eines HUS und der Antibiotikagabe festgestellt werden und zum anderen konnten auch einige positive Verläufe verzeichnet werden [125], [126]. Ein Behandlungszentrum führte während der Epidemie 2011 eine antibiotische Therapie mit Meropenem und Ciprofloxacin, z. T. auch mit Rifaximin durch. Verglichen mit Patienten, welche keine Antibiose bekamen, zeigte sich eine verkürzte Ausscheidungsdauer bei den antibiotisch behandelten Patienten [24].

Der C5-Komplementantikörper Eculizumab wurde 2011 flächenhaft in einem unkontrollierten Studiendesign eingesetzt. Es handelt sich um einen rekombinanten, humanisierten monoklonalen Antikörper. Dieser bindet C5 des Komplementsystems und hemmt dadurch die Spaltung in C5a und C5b. Folglich können sich die terminalen Komplementkomponenten nicht ausbilden [11].

Die Indikation für die Gabe von Eculizumab besteht im Rahmen der Behandlung der paroxysmalen nächtlichen Hämoglobinurie (PNH), des atypischen hämolytisch-

urämischen Syndroms (aHUS), der refraktären generalisierten, Acetylcholin-Rezeptor-Antikörper-positiven Myasthenia gravis (gMG) und der Neuromyelitis-optica-Spektrum-Erkrankungen (NMOSD) [11], [26].

2011 wurde von drei erfolgreichen Behandlungen bei Kindern mit Eculizumab-Anwendungen berichtet. Nach Gabe von Eculizumab kam es zu einer Verbesserung der neurologischen Symptomatik, zuvor zeigte die Plasmapherese keinen Erfolg [127]. Aufgrund der schweren Verläufe und dem unzureichenden Ansprechen auf den Plasmaaustausch, erfolgte die Entscheidung zum Off-label-use von Eculizumab. Vor Therapiebeginn wurden alle Patienten gegen Meningokokken geimpft und zusätzlich zur Gabe von Eculizumab bekamen die Patienten Azithromycin, das eine schnellere Elimination von E. coli O104:H4 aus dem Darm bewirken sollte. Die ersten Erkenntnisse von 2011 ergaben keinen Unterschied in Bezug auf Beatmung, Dialysepflichtigkeit, Krampfanfälle und Tod in der Behandlung mit oder ohne Eculizumab. Der Nutzen ist somit fraglich. Es fiel aber auf, dass das Serumkreatinin in der Gruppe der Patienten ohne Eculizumab signifikant höher war [11], [24].

Als Rescue-Therapiemaßnahme kam an der Universitätsmedizin Greifswald (UMG) und der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) die Immunadsorption zum Einsatz [11]. Das Prinzip dieser Therapieform beruht auf der Bindung zirkulierender Antikörper an Sepharosesäulen, an die polyklonale Antikörper gegen humanes Immunglobulin gebunden sind [28]. Trotz der Therapie mit Plasmaaustausch und Eculizumab traten bei den 12 Patienten der UMG und der MHH weiterhin schwere neurologische Komplikationen auf. Auf Grundlage des Verdachts, dass Antikörper gegen vWF und STx sowie Immunkomplexe eine Rolle spielen könnten, entschieden sich die behandelnden Ärzte zur Immunadsorption. Insgesamt wurden 12 Patienten mit dieser Therapieform behandelt [22]. Mittels einer Protein A Säule wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen pro Sitzung je 12 L Plasma behandelt, was einem Zyklus entspricht. Dabei dauert eine Immunadsorption ca. sechs bis acht Stunden. Die Immunadsorption ist wie der Plasmaaustausch gegen Humanalbumin ein depletierendes Verfahren. Der Plasmaaustausch depletiert zwar gegen Frischplasma, allerdings gegen einen geringeren Gradienten, weil Spenderplasma und damit unter anderem auch Immunglobuline und sogar (in dieser Situation schädliches) frisches Komplement zugeführt werden. Zusätzlich wurden nach der zweiten Immunadsorptions-Sitzung intravenös Immunglobuline (Privigen®)

substituiert [22]. Diese enthalten außerdem Antizytotoxinantikörper mit direktem Effekt auf das Shiga-Toxin [128]. Bei allen 12 Patienten ließ sich eine rasche Besserung der Symptomatik noch während der Immunadsorption feststellen. Der Therapieerfolg konnte auch durch zwei weitere Arbeitsgruppen aufgezeigt werden [11], [22].

### **1.3.3. Krankheitsverlauf mit Beginn der Immunadsorption bei den an der UMG behandelten Patienten**

Mit Start der Immunadsorption kam es bei allen Patienten, aber vor allem bei Patient No. 3 und No. 4, zu einer Verbesserung der neurologischen Symptomatik. Eine weitere Sitzung war bei ihnen nicht notwendig, wohingegen Patient No. 1, No. 2 und No. 5 mehrere Anwendungen benötigten. Während der Immunadsorption ließ sich eine positive Entwicklung erkennen: Patient No. 2 und No. 5 litten unter einer Aphasie und begannen während der Immunadsorption an zu sprechen, der Myoklonus bei den Patienten No. 1, No. 2 und No. 5 kam zum Erliegen und die Panikattacken bei Patient No. 2 stoppten.

Alle Patienten haben überlebt und hatten durch die Immunadsorptionstherapie keinen Nachteil. Die Nierenfunktion hat sich noch während des Aufenthalts auf der Intensivstation außerordentlich verbessert, sodass eine weiterführende unterstützende Therapie nicht notwendig war.

In der neuropsychologischen Untersuchung wiesen zwei Patienten kurz vor der Verlegung in die Rehabilitationsklinik noch leicht attentionale Defizite auf. Erste Ermüdungserscheinungen traten im Schnitt nach 20 Minuten beim Durchlauf der neuropsychologischen Tests auf.

Es blieben zunächst lediglich leichte neurologische Symptome zurück, die in den folgenden 2-3 Wochen komplett regredient waren [22].

## **1.4. Zytokine**

Zytokine sind Proteine, die grundlegende Prozesse wie Wachstum, Differenzierung und Zellfunktionen regulieren. Zytokine können in drei Gruppen eingeteilt werden. Die erste Gruppe wird von den Wachstumsfaktoren gebildet mit Wirkungen auf den gesamten Organismus. Sie regulieren vor allem während der Embryonalphase das Größenwachstum, Zellproliferation und Zelldifferenzierung sowie die

Wachstumsrichtung von Axonen und Kapillaren und das Überleben bzw. die Apoptose von Zellen. Beispielhafte Zytokine sind IGF-I und IGF-II, VEGF, NGF oder die TGF $\beta$ -Familie, welche die Entwicklung verschiedener Organe und Knochen beeinflusst. Die Hämatoetine bilden die zweite Gruppe. Sie regulieren die Proliferation und Differenzierung hämatopoetischer Stamm- und Vorläuferzellen. In ihrer Wirkung überschneiden sie sich mit der dritten Gruppe, die von den Zytokinen des Immunsystems gestellt wird [13]. Ihre Wirkung können sie autokrin, parakrin oder endokrin vermitteln, indem sie vor allem schnelle Signalwege, die in den Zellkern führen, aktivieren [16]. Dies gelingt meist über Rezeptortyrosinkinasen, Rezeptoren mit assoziierten Tyrosinkinasen, Rezeptor-Serin/Threoninkinasen aber auch über TNF- und IL-1/Toll-Rezeptoren [13]. Es können fast jegliche Aspekte der Immunantwort durch die sezernierten oder auch membrangebundenen Zytokine ausgelöst werden [48]. Zu den wichtigsten Entzündungsmediatoren gehören IL-1, IL-6 und auch TNF $\alpha$  [13]. So zeigten sich bei der Bestimmung von Zytokinspiegeln im Serum von Patienten mit HUS unter anderem erhöhte Werte für IL-6, IL-8 und TNF $\alpha$  [14]. IL-8, alternativ auch als CXCL8 bezeichnet [16], wird von infizierten Epithelien gebildet und wirkt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten. IL-10 hingegen ist das wichtigste immunsuppressiv wirkende Interleukin [13]. Prinzipiell kann zwischen proinflammatorischen und antiinflammatorischen Zytokinen unterschieden werden und sind sowohl Teil des angeborenen als auch des adaptiven Immunsystems [16]. Im Folgenden werden die einzelnen Untergruppen der Zytokine des Immunsystems vorgestellt (siehe Tab. 1.3 und Tab. 1.4 im Anhang).

#### **1.4.1. Interleukine**

Interleukine sind von Lymphozyten produzierte Zytokine und werden auch als Lymphokine bezeichnet [16]. Sie werden aus über 20 verschiedenen Proteinen gebildet. Ihre Funktion besteht unter anderem darin, die Kommunikation zwischen den Zellen der Immunantwort zu regulieren, sowie die Proliferation und Differenzierung hämatopoetischer Stammzellen. Des Weiteren vermitteln einige Interleukine eine Entzündungsreaktion [13].

##### **1.4.1.1. Interleukin 6**

IL-6 ist ein monomeres Glykoprotein mit einer Größe von 21 - 26 kD. Die Bildung erfolgt unter anderem durch aktivierte Makrophagen und T-Lymphozyten, aber auch

durch Fibroblasten, Mastzellen oder Epithelzellen, Endothelzellen sowie durch Stromazellen des Knochenmarks und verschiedenen Tumorzellen. Ähnlich der Effekte von TNF $\alpha$  dient die immunbiologische Hauptwirkung von IL-6 der Erhöhung der Körperkerntemperatur als endogenes Pyrogen und induziert die Produktion von hepatischen Akut-Phase-Proteinen [48]. IL-6 ist ein wichtiger Prognosemarker während einer Sepsis, einen septischen Schock wie TNF $\alpha$  kann es aber nicht auslösen [48], [49]. Auch auf Nervenzellen hat IL-6 einen Einfluss. Es induziert die Differenzierung dieser und sorgt für deren Überleben. Die Differenzierung von Makrophagen wird ebenfalls von IL-6 beeinflusst. IL-6 unterstützt außerdem die Thrombopoese und das Wachstum von hämatopoetischen Vorläuferzellen.

Die Bestimmung von IL-6 wird mittels eines ELISA-Kits durchgeführt. Der Referenzbereich liegt bei < 10 pg/ml im Plasma. Differenzialdiagnostisch ist keine Schlussfolgerung möglich. Der Nachweis von erhöhten IL-6-Konzentrationen weist lediglich auf einen Entzündungsprozess hin. Wird gleichzeitig TNF $\alpha$  nachgewiesen, so spricht dieses für eine überschießende Immunantwort, beispielsweise im Rahmen einer Sepsis. Innerhalb von sechs Stunden und bis zu 48 Stunden nach Infektionsbeginn kann IL-6 nachgewiesen werden. Nicht nur bei entzündlichen Prozessen, sondern auch bei Gewebshypoxie oder Traumata kann IL-6 in erhöhten Konzentrationen gemessen werden. Bis auf bei der neonatalen Sepsis ist eine Verlaufsuntersuchung aussagekräftiger als eine Einzelbestimmung [49].

#### **1.4.1.2. Interleukin 10**

Interleukin 10 ist ein unglykosyliertes Polypeptid mit einer Größe von 17 - 21 kD. IL-10 bewirkt sowohl immunsuppressive als auch immunmodulatorische Antworten, wobei die genauen Wirkmechanismen nicht vollständig geklärt sind [48]. Seine Bildung erfolgt als Reaktion auf einen Entzündungsprozess durch T-regulierende Zellen in einer späten Phase der Immunantwort, aber auch dendritische Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Monozyten und Endothelzellen sind daran beteiligt, wobei die letztgenannten in der Lage sind, größere Mengen von IL-10 zu bilden [16], [48], [50]. Die meisten Zellen, von denen es gebildet wird, dienen auch als Zielzellen [51]. Seine hauptsächlichste immunsuppressive Wirkung übt IL-10 über die Hemmung proinflammatorischer Zytokine aus, wie zum Beispiel die Hemmung von aktivierten Makrophagen bzw. die Synthese von IL-6, IL-8/CXCL8, TNF $\alpha$  und  $\beta$  und anderen. Des Weiteren stimuliert es zytotoxische T-Lymphozyten und hat damit Einfluss auf

die Zytotoxizität und beeinflusst unterschiedliche immunmodulatorische Zellen in ihren Funktionen, darunter auch dendritische und NK-Zellen. Neben anderen Zytokinen hat es eine kostimulierende Wirkung auf primitive hämatopoetische Stammzellen, Thrombozytopoese und die Bildung von Erythrozyten. IL-10 übernimmt damit in der natürlichen als auch in der erworbenen Immunantwort gegenüber einer großen Vielzahl von Bakterien, Pilzen und Protozoen eine tragende Rolle. Es hemmt vor allem das Ausmaß der Immunantwort und dient dem Gewebsschutz. Für die optimale Wirkung ist die Herstellung und Aufrechterhaltung eines Gleichgewichts zwischen effektiven Schutz vor Pathogenen und kontrollierter Gewebsschädigung notwendig [48].

#### **1.4.1.3. Interleukin 17A**

IL-17 ist Teil einer Familie, zu der weitere Zytokine gehören. Es ist ein Homodimer, welches differenziell glykosyliert ist und eine Größe von 20 - 30 kD aufweist. Die Bildung erfolgt ausschließlich von aktivierten T-Zellen. Der Rezeptor, an dem die Zytokine der IL-17-Familie ihre Wirkung vermitteln, ist in allen Geweben nachweisbar, aber mit keinem anderen Zytokinrezeptor vergleichbar. Die biologische Aktivität zeigt sich in unterschiedlichen Geweben. Es wirkt proinflammatorisch, indem es weitere Entzündungsmediatoren freisetzen kann, wie beispielsweise IL-6 und CXCL8. Dies führt wiederum zur Proliferation, Reifung und Chemotaxis neutrophiler Granulozyten. Erhöhte Konzentrationen von IL-17A sind bei Entzündungen der Atemwege, des Magen-Darm-Traktes, bei rheumatoider Arthritis, Multipler Sklerose, Psoriasis und anderen Erkrankungen nachgewiesen worden [48].

#### **1.4.2. Tumor Necrosis Factor**

Die TNF-Superfamilie setzt sich ebenfalls aus verschiedenen Proteinen zusammen. Die Signaltransduktion wird über zwei unterschiedliche TNF-Rezeptoren Typ 1 und Typ 2 vermittelt [13]. Durch die Bindung von Mitgliedern der TNF-Familie bilden sie Homotrimere, wobei die Bildung der Trimerstruktur anscheinend der entscheidende Vorgang beim Auslösen der Signale ist [16]. Allgemeine Aufgaben sind die Regulation des Überlebens bzw. der Apoptose von Zellen, die Immunantwort und Entwicklung einer Homöostase von Lymphgewebe, neuronalen und ektodermalen Geweben. Der bekannteste Vertreter ist TNF $\alpha$ . Die Aktivierung von Immunzellen und Anlocken zum Infektionsherd sind beispielhafte Funktionen. Außerdem stimuliert



TNF $\alpha$  die Chemokinproduktion [13]. Neben der lokalen Begrenzung einer Infektion kann TNF $\alpha$  auch systemisch ausgeschüttet werden und zu einem schweren Schock mit dem Bild einer Sepsis führen. Die Freisetzung von TNF $\alpha$  wird von LPS-tragenden Pathogenen stimuliert und erfolgt unter anderem durch T-Zellen. Diese sind in der Lage eine lösliche und eine membrangebundene Form zu synthetisieren [16].

Wie bereits erwähnt, ist TNF $\alpha$  in der Lage eine Schädigung der Blut-Hirn-Schranke herbeizuführen und unter anderem auch zum Zelluntergang neuronaler Zellen beizutragen [32].

Der lösliche TNF-Rezeptor ist ein Teil des TNF-Rezeptors, der sich außerhalb der Zellmembran befindet und die Funktion des TNF-Rezeptors beeinflussen kann [32].

#### **1.4.3. Interferone**

Interferone werden im Rahmen einer Virusinfektion sezerniert und zählen zu den am längsten bekannten Zytokinen [52]. Ihre Aufgabe ist es, das Übergreifen von Viren auf nicht infizierte Zellen zu verhindern [16]. Die Familie der Interferone wird aus strukturell ähnlichen Proteinen gebildet. Differenziert werden Typ-I-Interferone, wozu unter anderem IFN- $\alpha$  und IFN- $\beta$  gehören, von Typ-II-Interferonen. Zur letztgenannten Gruppe zählt IFN- $\gamma$ , das von CD4-T<sub>H</sub>1-Effektorzellen, CD8-T-Zellen und NK-Zellen produziert wird sowie manchmal auch von Makrophagen und dendritischen Zellen. IFN- $\gamma$  aktiviert vor allem Makrophagen, aber auch Neutrophile und NK-Zellen. Es hat außerdem Einfluss auf die Mechanismen der spezifischen zellulären Immunität [13], [16], [48] [52]. Des Weiteren bewirkt IFN- $\gamma$ , dass proinflammatorische Zytokine und Chemokine für die Immunantwort vorhanden sind [48].

IFN- $\alpha$  und IFN- $\beta$  werden von verschiedenen Zellen als Reaktion auf eine Virusinfektion hergestellt und haben eine antivirale als auch antiproliferative Wirkung [16], [52].

#### **1.4.4. Chemokine**

Hierzu zählen Zytokine, welche chemotaktisch wirksam sind, wie auch das IL-8. Die Freisetzung erfolgt in der allerersten Phase einer Infektion [16]. Ihre Wirkung vermitteln sie über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Sie rekrutieren Leukozyten zum Herd der Infektion und steuern die Wanderung der Leukozyten aus dem Blut zum Fokus der Entzündung [13]. Außerdem mobilisieren sie Monozyten, neutrophile Zellen und noch andere Effektorzellen. Weitere Auswirkungen haben Chemokine auf

Lymphozyten und die Angiogenese, wie beispielsweise IL-8/CXCL8. Die Mitglieder der Chemokinfamilie können in zwei Gruppen eingeteilt werden: CC-Chemokine, deren Gene vor allem auf Chromosom 17 lokalisiert sind und CXC-Chemokine, die beim Menschen vor allem in einem Cluster auf Chromosom 4 codiert werden. Die Wanderung von Monozyten und Leukozyten wird von den CC-Chemokinen stimuliert und die Wanderung der neutrophilen Zellen wird durch die CXC-Chemokine herbeigeführt [16]. Eine Übersicht zeigt die Tab. 1.4 im Anhang.

### **1.5. Matrix-Metalloproteinasen (MMPs)**

Sie bilden eine Gruppe aus Enzymen, die an der Zusammensetzung der Zellmatrix beteiligt sind [32]. MMPs wirken bei vielfältigen physiologischen als auch pathologischen Prozessen mit. Hierzu zählen die Embryogenese, Wundheilung, Arthritis, Entzündung, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Lungenerkrankungen und Krebs [33]. Ein Mitglied dieser Enzymfamilie ist MMP9. MMP9 ist in der Lage Kollagen IV abzubauen. Kollagen IV ist einer der wichtigsten Bestandteile der Basalmembran zerebraler Endothelien und ist zusätzlich fähig, die Zellmigration über die BHS zu fördern. Die Aktivität der MMPs wird durch spezifische Gewebsinhibitoren (TIMP; „tissue inhibitor of MMP“) begrenzt [32]. TIMPs sind endogene Proteinregulatoren und hemmen neben den Matrix-Metalloproteinasen auch die Familie der Disintegrin-Metalloproteinasen (ADAM und ADAMTS) [34].

### **1.6. Selektine**

Selektine sind Adhäsionsmoleküle, welche bei der Migration von Leukozyten aus dem Gefäßsystem von Bedeutung sind [48]. Sie gehören zu den Glykoproteinen und sind membranständig. Ihre distale Domäne ist in der Lage spezifische Kohlehydratgruppen zu binden [16]. Dabei werden drei Moleküle unterschieden (L-Selektin auf Leukozyten, E- und P-Selektin auf Endothelzellen). Sie erlauben einen punktuellen Kontakt zwischen Leukozyten und Endothelzellen. Zusätzlich können die Selektine aber auch Einfluss auf das Verhalten der Leukozyten nehmen [48].

#### **1.6.1. E-Selektin (ELAM-1, CD62E)**

Die Expression von E-Selektin findet an der Oberfläche von Endothelzellen der Hautgefäße statt und konnte aber auch in den Gefäßen von entzündlichen Geweben nachgewiesen werden. Die Regulation der Expression wird über NFκB und AP1

reguliert. LPS, TNF $\alpha$ , als auch IL-1 gehören zu den regulierenden Faktoren. Nach Aktivierung des Endothels dauert es ca. zwei bis vier Stunden bis an der Oberfläche CD62E nachgewiesen werden kann [16], [48]. Sie können hauptsächlich als lösliche Form (sE-Selektin) nach Endothelzellaktivierung und der Interaktion mit Leukozyten nachgewiesen werden [129]. Dabei wird die lösliche Form durch die Einwirkung von Zytokinen, TNF $\alpha$  und IL-1 gebildet [135]. Erhöhte Serumspiegel von sE-Selektin sprechen für eine Schädigung von Endothelzellen [129]. Da sE-Selektin ausschließlich von Endothelzellen gebildet wird, stellt es einen sehr guten Marker für die Endothelzellaktivierung dar [134].

## 2. Fragestellung der Dissertation und deren Hintergrund

Im Jahr 2011 kam es nicht nur in Deutschland und in anderen Ländern Europas sowie Nordamerikas zu einem Ausbruch von Infektionen mit EHEC, sondern auch in Toyama und anderen Bezirken Japans. Allerdings wurde dieser auf einen anderen Serotypen EHEC O111 zurückgeführt. Hierbei zeigten sich, wie später auch durch EHEC O104:H4 bedingt, sehr schwerwiegende Verläufe, die teilweise letal endeten [31]. Insbesondere die Schwere der neurologischen Komplikationen bei erwachsenen Patienten mit EHEC-HUS war unerwartet und hat bis heute keine Erklärung gefunden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Zytokinmuster bei Patienten mit EHEC-HUS zu untersuchen. In der Literatur geben bisher folgende Studien Hinweise auf den Forschungsstand: In einer 2008 erschienen Studie von Shiraishi et al. konnte gezeigt werden, dass Zytokine eine wichtige Rolle in der Entwicklung des hämolytisch-urämischen Syndroms und neurologischer Komplikationen durch EHEC O157 spielen. Bei Patienten, welche im Rahmen einer EHEC O157-Infektion an HUS erkrankt waren und neurologische Symptome entwickelten, zeigten signifikant höhere Werte für IL-6, IL-10, sTNFR1, sE-Selectin, MMP9 und TIMP1. Dies konnte nicht für TNF $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2 und IL-4 nachgewiesen werden [32]. Das Ergebnis der Studie konnte bei Patienten mit EHEC O111 nachvollzogen werden. Shimizu et al. bestätigte in seiner Arbeit von 2012 eine signifikante Erhöhung der Parameter IL-6, IL-8, Neopterin, sTNFR1 und sTNFR2 bei Patienten mit schwerwiegendem HUS im Vergleich zu Patienten mit einem milden Verlauf [31]. Die Zytokinwirkung und deren Ausmaß konnte 2004 in der Arbeit von Eisenhauer et al. gezeigt werden. Eine Vorbehandlung mit TNF $\alpha$  führte zu einer Verstärkung der Effekte des Shiga-Toxins an humanen Endothelzellen, wohingegen Kita et al. einen antiapoptotischen Effekt an humanen Endothelzellen in vitro durch IL-10 nachwies [35], [36]. Die Annahme, dass proinflammatorische Faktoren wie TNF $\alpha$  eine Neuroinflammation und die Apoptose von Neuronen begünstigen, auch ohne dass eine direkte Toxinwirkung ausgeübt wird, wird in der Arbeit von Takahashi et al. aus dem Jahr 2008 postuliert. Hier konnte in einem Kaninchenmodell gezeigt werden, dass Stx-2 über den Gb3-Rezeptor des Endothels zu einer Schädigung der Gefäße führte. Des Weiteren kam

es zu einer verstärkten Produktion von proinflammatorischen Faktoren und einer Aktivierung von Mikroglia [37].

## **2.1. Fragestellung**

Unsere Hypothese ist, dass EHEC-HUS-Patienten mit neurologischen Symptomen im Rahmen eines neuroinflammatorischen Prozesses ein Ungleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen im Serum aufweisen im Vergleich zu Betroffenen ohne neurologische Symptome.

Des Weiteren soll die Kinetik der Zytokine im Serum während der Immunadsorptionstherapie untersucht werden, um eventuelle Rückschlüsse auf den Erfolg des Verfahrens ziehen zu können und mit der Plasmapheresebehandlung verglichen werden.

Hierzu wurden Seren und klinische Daten von bundesweit 35 EHEC-HUS-Patienten aus dem Jahr 2011 analysiert, welche von der DGfN zur Verfügung gestellt wurden.

Die an der Universitätsmedizin Greifswald mittels Immunadsorption behandelten EHEC-HUS-Patienten werden zudem klinisch im Langzeitverlauf mittels neurophysiologischer und klinischer Untersuchung, Sonografie der Nieren und cMRT nach 30 Monaten re-evaluiert.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1. EHEC-Register**

Das EHEC-Register ist eine tabellarische Zusammenfassung von Patientendaten, welche während der Epidemie 2011 auf Veranlassung der DGfN zusammengestellt wurde. Insgesamt konnten von 621 Patienten Daten im Rahmen ihrer EHEC-Erkrankung erfasst werden. Neben persönlichen Daten zu Alter und Geschlecht sowie Herkunft und Bildung wurden auch Information bezüglich der Symptomatik und Laborparameter der an EHEC erkrankten Patienten zusammengetragen. Zusätzlich wurden in diesem Rahmen von 95 der im Register erfassten Patienten Blutproben zur weiteren Diagnostik gewonnen. Die Proben konnten in Serum-, EDTA-, EDTA mit 10 % DMSO-, Heparin-Plasma-, Citrat-Plasma-, EDTA-Plasma-, Plasmafiltrat- und Lithium-Heparin-Proben unterschieden werden. Die Blutentnahmen fanden zu unterschiedlichen Zeitpunkten unter verschiedenen Bedingungen in der jeweiligen Klinik statt, in der der Betroffene behandelt wurde. Diese von der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie zur Verfügung gestellten Proben und die Informationen aus dem Register bieten den Rahmen für diese Arbeit. Auf Grundlage des EHEC-Registers wurde eine Probenbank mit entsprechender Kennzeichnung der Anzahl der Proben und des Materials erhoben. Die Proben wurden aliquotiert und bei -80 °C eingefroren und aufbewahrt.

Alle Patienten bekamen in dem Register eine Patienten-ID-Nummer. Zur Erstellung der Datenbank für die Studie wurde ausschließlich diese Patienten-ID verwendet, sodass die Patientendaten anonymisiert sind.

#### **3.1.1. Auswahl der Patientenproben**

Der Fokus liegt auf den Patienten aus dem Register, zu denen eine Blutprobe vorlag. Nach Zusammentragen aller Informationen aus der Datenbank der DGfN und der Informationen zu den Blutproben reduzierte sich die Gesamtanzahl der im EHEC-Register erfassten Patienten von 621 auf 84. Diese bildeten die Grundlage unserer Arbeit.

Von diesen 84 Patienten wurden die Basisdaten wie Alter, Geschlecht, Zeit bis zur Hospitalisierung als auch die Dauer der Hospitalisierung, Symptomatik, EHEC-Nachweis, Anzahl an HUS-Fällen, neurologische Symptomatik, Beatmungs- und Dialysepflicht und Todesfälle ausgewertet. Des Weiteren wurden zwei Kohorten für

die Studie anhand des Unterscheidungsmerkmals der neurologischen Symptomatik während der EHEC-HUS-Erkrankung erstellt. Ziel war es, der Frage nach einem Ungleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen und Entzündungsmediatoren nachgehen zu können. So ergab sich eine Gruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) und eine Gruppe ohne neurologische Symptome (ONS). Es wurde darauf geachtet, dass ausschließlich Serum als Probenmaterial zur Verfügung stand und der Zeitpunkt der Blutabnahme vor Beginn jeglicher Therapie mit Plasmapherese, Eculizumab, Antibiotika oder Immunadsorption lag, aber ebenso eine Verlaufsanalyse möglich gewesen wäre. Vor diesem Hintergrund konnten insgesamt Daten und Blutproben von 35 Patienten, wovon 27 zur MNS-Gruppe und 8 zur ONS-Gruppe gehörten, in die Studie eingeschlossen werden. Im Schnitt lag der Zeitpunkt der ersten Blutentnahme seit Beginn der Symptomatik bei 6 Tagen. Bei der Messung der Proben zu den Zytokinparametern ergaben sich unterschiedliche Gesamtanzahlen für die zwei zu vergleichenden Gruppen. Ein Überblick wird anhand der Tab. 4.5 auf Seite 47 dargestellt.

Um den Effekt der Therapie der Plasmapherese mit dem der Immunadsorption vergleichen zu können, werden die Kinetik der Parameter bei den in der Universitätsmedizin Greifswald mit Immunadsorption behandelten Patienten (n=4), welche auch Teil der Follow-up-Untersuchung waren, sowie die Kinetik zweier Patienten, die mit Plasmapherese behandelt und im EHEC-Register erfasst wurden, betrachtet. Hierzu untersuchten wir die Blutproben der jeweiligen Patienten von vor und nach der Behandlung mit Plasmapherese oder Immunadsorption. Alle Patienten zählten zu der Gruppe mit neurologischen Symptomen.

### **3.2. Auswahl der Parameter**

Auf Grundlage der Erkenntnisse von vor allem Shimizu et al. und Shiraishi et al. wurden folgende Parameter bestimmt: sE-Selectin, TIMP1, MMP9, sTNFR1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, IL-10, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ . Außerdem CCL5/Human RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 und CXCL10/IP-10.

In Abhängigkeit der ersten Ergebnisse wurden zum Vergleich der Wirksamkeit von Plasmapherese und Immunadsorption nur CCL5/Human RANTES, IL-6, IL-10, MMP9, sTNFR1 und bei den Greifswalder Patienten zusätzlich noch IL-17A ermittelt.

Die verwendeten Methoden werden unter dem Kapitel 3.4.6. Zytokinbestimmung mittels ELISA und CBA FLEX Kit erläutert.

### **3.3. Patientenpopulation des 30 Monats-Follow-up**

An der Universitätsmedizin Greifswald wurden während der EHEC-Epidemie 2011 sechs Patienten mit EHEC-HUS behandelt. Bei fünf von sechs Patienten wurde nach 30 Monaten eine Nachuntersuchung durchgeführt, wovon vier der fünf Patienten während ihrer EHEC-Erkrankung mit Immunadsorption behandelt worden sind. Es erfolgten standardisierte neurologische, neuropsychologische und internistisch-klinische sowie laborchemische Untersuchungen, eine Sonografie der Nieren und eine Kernspintomografie des Kopfes.

Der Ethikantrag zur nephrologischen, neuropsychologischen und kernspintomografischen Nachuntersuchung wurde von der Ethikkommission der Universitätsmedizin Greifswald unter der internen Reg.Nr.: BB 089/13 geprüft und genehmigt.

### **3.4. Methoden**

#### **3.4.1. Kernspintomografie des Schädels**

Die kernspintomografische Untersuchung des Schädels wurde nativ mithilfe eines Magnetresonanztomografen der Firma Siemens durchgeführt. Dabei kam die Technik einer 3T-32-Head-Spule zum Einsatz. Die folgenden Bildsequenzen wurden angefertigt:

- sagittalen T2 TSE (Turbo-Spin-Echo),
- sagittale T1 MPR (mit multiplanaren Rekonstruktionen),
- axiale T2 FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery),
- koronare T2 FLAIR,
- axiale T2 TSE,
- DWI (diffusions weighted imaging),
- SWI (suszeptibilitätsgewichtete Bildgebung).

Der Bildkontrast ist abhängig von den Gewebeparametern T1 und T2, den Sequenzparametern TR (Repetitionszeit) und TE (Echozeit) sowie dem Sequenztyp.



Mithilfe der Turbo-Spin-Echo-Sequenz können kürzere Messzeiten erreicht werden, allerdings sind diese Sequenzen anfälliger für Artefakte.

Durch die FLAIR-Sequenz kann das Signal von Wasser, durch vorher eingefügte Sättigungsimpulse, herabgesetzt werden, sodass andere Gewebe stärker hervortreten können.

Die DWI-Sequenz wird vor allem in der Infarktdiagnostik genutzt und ähnelt der T2-Sequenz. Gemessen wird die Diffusion von Wassermolekülen [131].

Das Vorhandensein unterschiedlicher magnetischer Suszeptibilitäten zwischen den Geweben stellt die Grundlage der SWI-Bildgebung dar. Die SWI-Bildgebung wird zur Darstellung venöser Gefäße, Eisen oder Mikrohämmorrhagien verwendet [132].

### **3.4.2. Internistische Untersuchung inklusive klinischer Chemie**

Die allgemeine körperliche und internistische Untersuchung beinhaltet eine Anamneseerhebung, Untersuchung von Herz, Lunge und Abdomen mit detaillierter Nierensonografie (siehe unten). Zu dem erfolgte eine Blutentnahme und Urindiagnostik.

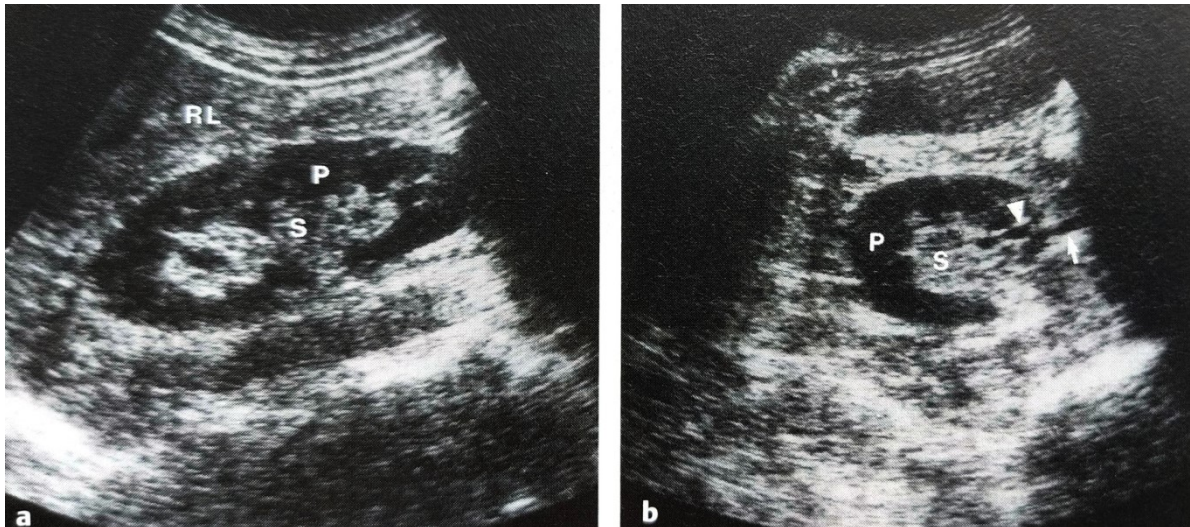
### **3.4.3. Nierensonografie**

Die Sonografie wird mit dem Gerät EUB-7500 der Firma HITACHI MEDICAL COOPERATION durchgeführt. Das Ultraschallgerät EUB-7500 ist ein kompaktes digitales Hochleistungssystem für die Bildgebung mit Ultraschall. Das System ermöglicht die Bilderzeugung des Oberbauches in den Betriebsarten 2D (B)-Modus und Farb-Doppler sowie die Elastografie. Weiterhin ist das EUB-7500 Gerät mit einer 10 - 5.0 MHz Linear 64 mm elastografiefähigen EUO L53-Sonde sowie einer 7.0 - 3.0 MHz EUP L52-Sonde ausgestattet.

### **Untersuchungstechnik**

Verschiedene Zugangswege ermöglichen die sonografische Untersuchung der Nieren:

1. ventrolaterale Schalleinstrahlung in Rückenlage,
2. dorsolaterale Schalleinstrahlung in Rücken- oder Seitenlage,
3. dorsale Schalleinstrahlung in Bauchlage.



**Abb. 3.1:** Sonografischer Normalbefund der rechten Niere – Schematischer Nierenlängs- und Querschnitt [131]

A Längsschnitt: RL rechter Leberlappen, P Nierenparenchym, S Sinus renalis

B Querschnitt: p Nierenparenchym, S Sinus renalis, V. renalis (Pfeilspitz), A. renalis (Pfeil)

Rechte Niere: Die Standardposition für die Untersuchung der rechten Niere ist die RAO-Position (rechter vorderer Schrägdurchmesser). Nach maximaler Inspiration wird unter Nutzung der Leber als Schallfenster untersucht. Für die Querschnitte empfiehlt sich eher der Flankenschnitt, für die Analyse der Gefäße ein ventraler Zugang.

Linke Niere: Die Untersuchung erfolgt vorzugsweise in Rechtsseitenlage. Die Längsschnitte orientieren sich an der Lage der Nieren. Sollte die Milz als Schallfenster verwendbar sein, empfiehlt sich auch ein Zugang von anterior.

### **Standarddokumentation in der Nieren-Sonografie**

Sonografisch obligat darzustellende anatomische Strukturen bezogen auf die Standardschnitte der rechten und linken Niere:

Längsschnitt: Rechter Leberlappen (rechte Niere) bzw. Milz (linke Niere), Niere (perirenales Fett, Nierenkapsel, Nierenparenchym, Rinde, Mark, Hohlraumssystemechos)

In dieser Schnittebene ist zu beurteilen:

1. Leber- und Nierenparenchymstruktur (z. B. echoreiche Nieren bei chronischer Schädigung),
2. Rinden-Mark-Relation,

3. Parenchymverdickung oder -verschmälerung,
4. Nierengröße,
5. Raumforderungen im Parenchym (Zysten -Einteilung nach Bosniak, solide Raumforderungen, Echogenität der Raumforderungen),
6. Raumforderungen innerhalb des Hohlraumsystems,
7. Nierenhohlraumsystem, Dilatation, Deformation,
8. Konkremente, (parenchymatöse) Verkalkungen, Papillennekrosen,
9. Fakultativ rechte Nebenniere.

Querschnitt: Darstellung von rechtem Leberlappen (rechte Niere) bzw. Milz (linke Niere), Nierenkapsel, Nierenparenchym, Rinde, Mark, Hohlraumssysteme, Nierenvene und/ oder -arterie

In dieser Schnittebene ist zu beurteilen:

1. Wie Längsschnitt und
2. Zusätzliche Beurteilung von Nierenvene und Nierenarterie (Verschlüsse, Stenosen, Aneurysmen).

Das Ausmessen der Länge und Breite beider Nieren erfolgt im maximalen Längs- und Querdurchmesser, der einstellbar ist. Die Parenchymdicke soll an drei verschiedenen Stellen (oberer/unterer Pol, Mitte) gemessen und dann gemittelt werden.

#### **3.4.4. Neurologische Untersuchung**

Die Überprüfung des neurologischen Status erfolgte nach einer standardisierten neurologischen Anamneseerhebung und körperlichen Untersuchung mit Überprüfung des Hirnnervenstatus, Meningismuszeichen, Lhermitte-Zeichen, Sensibilität und Vibrationsempfinden, Motorik und Kraft, Reflexprüfung, Koordination sowie Lagesinn. In der Akutphase wurden die Patienten täglich, später nach klinischer Notwendigkeit, vollständig neurologisch untersucht. Neurologische Auffälligkeiten wurden wie folgt gewertet und mit Punkten belegt: Desorientierung (1 Punkt), Panik oder Halluzinationen (1 Punkt), Koma (2 Punkte), Myoklonus (1 Punkte), Aphasie (1 Punkt), Parese (1 Punkt), zerebrale Krampfanfälle (1 Punkt) und mechanische Beatmung aufgrund neurologischer Störungen (3 Punkte).

### **3.4.5. Neuropsychologische Untersuchung**

Zur Erfassung der neuropsychologischen Leistungsfähigkeit wurden verschiedene diagnostische Tests angewendet: NeuroCogFX, MWT-B, TMT, VAT, LPS UT 3 und 8, FWIT, RWT, AAT UT TT, BDI-II, STAI. Im Anhang ist eine tabellarische Zusammenfassung der Tests dargestellt (siehe Tab. 3.1).

Der NeuroCogFX-Test ist ein computergestütztes neuropsychologisches Screeningverfahren zur Erfassung von Kurzzeitgedächtnis (Ziffernspanne), Arbeitsgedächtnis (Two-Back-Test), psychomotorischer Geschwindigkeit (einfache Reaktion), selektiver Aufmerksamkeit (Go/NoGo), verbalem und figuralem Gedächtnis sowie Wortflüssigkeit. Im Schnitt dauert der Test ca. 25 Minuten.

Die Abkürzung MWT-B steht für Mehrfachwahlwortschatzintelligenztest und dient der groben Erfassung des (prämorbid) kognitiven Niveaus. Dabei wird die Anzahl der richtigen Lösungen gewertet.

Mithilfe des Trail Making Test (TMT) kann die visuo-räumliche Explorationsgeschwindigkeit ermittelt werden, wobei die benötigte Zeit für die Bearbeitung der Aufgabe relevant ist. Der Test dient unter anderem dem Erkennen von Aufmerksamkeitsstörungen.

VAT (Visueller Assoziationstest) von Lindeboom und Schmand (2003) ist ein einfaches, nonverbales Gedächtnisverfahren und zeigt anterograde Amnesien auf [153]. Die Anzahl der korrekten Antworten ist dabei entscheidend.

LPS mit UT 3 und UT 8. Dahinter verbirgt sich ein Leistungsprüfsystem einschließlich des Untertests 3 (UT 3) zum logisch-schlussfolgernden Denken. Dabei wird die Anzahl der richtigen Lösungen gewertet. Genutzt wird er als Pendant zum MWT-B zur Ermittlung des nonverbalen prämorbid allgemeinen kognitiven Niveaus. Der Untertest 8 (UT 8) testet die räumliche Wahrnehmung und mentale Rotation. Auch hier wird die Anzahl der richtigen Lösungen gewertet.

Der Farb-Wort-Interferenztest nach Stroop (FWIT) beinhaltet Farbwortlesen, Farbstrichbenennen und Interferenzbedingung. Es ist ein objektiver und

zuverlässiger, mehrdimensionaler Leistungstest, der elementare Fähigkeiten der Informationsverarbeitung im optisch-verbalen Funktionsbereich misst [130]. Es werden jeweils drei Durchgänge absolviert. Ausgewertet wird der Median der jeweiligen Reaktionszeiten.

Regensburger Wortflüssigkeitstest (RWT) ist ein diagnostisches Testverfahren, bei dem innerhalb einer Minute Wörter mit den jeweiligen Anfangsbuchstaben (P oder K), im Wechsel mit zwei verschiedenen Anfangsbuchstaben (G/R oder H/T) und semantischen Begriffen (Tiere) genannt werden müssen. Ausgewertet wird die Summe richtiger Antworten.

Der Aachener Aphasie Test (AAT) stellt ein Testverfahren dar, bei dem eine Aphasie aufgrund einer erworbenen Hirnschädigung diagnostiziert werden kann. Er kann bei allen Ätiologien von Aphasien angewendet und die aphasischen Störungen können mithilfe des Testverfahrens beschrieben werden [154]. Der Token Test als Untertest dient dem Unterscheiden zwischen aphasischen und nicht aphasischen Hirnschädigungen. Des Weiteren kann das Sprachverständnis, die Aufmerksamkeitsleistung sowie die allgemeine kognitive Leistung geprüft werden. Gezählt wird die Anzahl der Fehler.

Becks-Depressions-Inventar (BDI-II) dient der Erfassung depressiver Symptome mithilfe von 21 Items. Dabei wird die Summe gezählt.

State-Trait-Angst-Inventar (STAI) ist ein Fragebogen zur Erfassung angstbezogener Symptome. Auch hier wird die Summe erfasst.

#### **3.4.6. Zytokinbestimmung mittels ELISA und CBA FLEX Kit**

Mithilfe eines Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) wurden MMP9, TIMP1, sE-Selectin und sTNFR1 bestimmt.

#### **MMP9 und TIMP1**

Die Messungen von MMP9 und TIMP1 erfolgten mittels eines ELISAs der Firma CLOUD-CLONE CORP. und es erfolgte nach entsprechender Anleitung des Herstellers die Durchführung.

Im Rahmen der Vorbereitungen erfolgte die Herstellung einer Standardlösung zum Vergleich der Werte unter Zugabe von 1 ml Standard Diluent, welche für zehn Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend die Verdünnungsreihe erzeugt wurde. Zur Anfertigung der DetectionReagent A/B-Lösung wurde in einem weiteren Schritt eine Verdünnung von 1:100 mit dem Assay A/B hergestellt. Im Anschluss wurde die Waschlösung von 20 ml zu 580 ml destilliertes Wasser hinzugegeben, sodass ein Gesamtvolumen von 600 ml entstand. Die Serumproben wurden mit PBS-Puffer in einem Verhältnis von 1:200 verdünnt.

Nach Abschluss der Vorbereitungen begann der eigentliche Messvorgang. Dazu wurden 100 µl in die Wells pipettiert und bei 37 °C für zwei Stunden inkubiert. Im Folgenden wurde die Flüssigkeit aus den Wells entfernt, aber nicht gewaschen und 100 µl der DetectionReagent A-Lösung hinzugegeben. Nachfolgend erfolgte nochmals eine Inkubation bei 37 °C für eine Stunde. Nach Absaugen der Lösung wurden drei Waschgänge mit ca. 200 - 350 µl der Waschlösung durchgeführt. Diese musste für ein bis zwei Minuten belassen werden. In einem weiteren Arbeitsschritt wurden 100 µl der DetectionReagent B-Lösung hinzugegeben, wobei danach nur eine 30 minütige Inkubation bei 37 °C folgte. Den folgenden Waschprozess, wie oben beschrieben, führten wir im Anschluss 5-mal durch. Weiter gab man 90 µl der Substratlösung in die Wells. Ein weiterer Prozess der Inkubation bei 37 °C für 15 - 25 Minuten war notwendig bis eine Blaufärbung zu erkennen war. Beendet wurde die Reaktion durch die Zugabe von 50 µl der Stop-Lösung (Gelbfärbung). Die Konzentration wurde anschließend mit einem Fotometer bei 450 nm Wellenlänge bestimmt.

### **sE-Selectin**

Die Bestimmung von sE-Selectin erfolgte mit einem ELISA der Firma WUHAN EIAAB SCIENCE CO., LTD. nach deren Anleitung.

Zunächst musste als Vergleich eine Standardlösung unter Zugabe von 1 ml Standard Diluent hergestellt werden. Des Weiteren wurden die DetectionReagent A/B-Lösungen angefertigt. Falls Kristalle vorhanden sind, wird zur Erzeugung der Waschlösung empfohlen, dies bei Raumtemperatur durchzuführen und zu warten, bis sich diese aufgelöst haben. Zu 30 ml der Waschlösung wurden 720 ml destilliertes Wasser hinzugegeben, sodass ein Gesamtvolumen von 750 ml entstand. Die Serumproben wurden mit PBS-Puffer in einem Verhältnis von 1:200 verdünnt.

Anschließend konnten die Serum-Proben gemessen werden.

Ähnlich der Messungen von MMP9 und TIMP1 war auch das Protokoll für sE-Selectin. Unterschiede lagen in der Menge der hinzugegebenen Waschlösung mit 200 - 400 µl und bei der dritten Inkubation, die für eine Stunde notwendig war.

Die Konzentrationsmessung erfolgte ebenfalls mit einem Fotometer bei 450 nm Wellenlänge.

### **sTNFR1**

Zur Bestimmung von sTNFR1 kam ein ELISA Kit der Firma ASSAY BIOTECHNOLOGY COMPANY/USA zur Anwendung. Die Durchführung erfolgte gemäß der Anleitung.

Nach entsprechender Vorbereitung für die eigentliche Messung mit Herstellung einer Standardlösung und Lösen eines Biotin-Antikörpers sowie Erzeugen einer Waschlösung durch Versetzen von 50 ml Waschlösung mit 450 ml destilliertem Wasser wurden in einem ersten Schritt 100 µl des Standards in die Wells gegeben und für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss erfolgten das Absaugen der Lösung sowie die Zugabe der Proben. Nach viermaligem Waschen mithilfe der Waschlösung wurden 100 µl des Biotin-konjugierten Antikörpers pro Well pipettiert. Es folgte eine zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur. Nach Absaugen des Antikörpers war es entsprechend der Anleitung notwendig, den Waschvorgang viermal zu wiederholen. Der nächste Schritt bestand darin, 100 µl des Ready-to-Use Streptavidin-HRP in die Wells zu geben mit nachfolgender Inkubation von 30 Minuten bei Raumtemperatur mit anschließendem erneuten Absaugen und Waschen, wie bereits beschrieben. Als Nächstes wurden 100 µl der Ready-to-Use Substrat-Lösung in die Wells verabreicht und bis zum Farbumschlag inkubiert. Nach Zugabe von 100 µl der Stop-Lösung erfolgte noch mal eine Inkubation für 30 Minuten. Dabei kommt es zur Gelbfärbung. Mit einem Fotometer bei 450 nm Wellenlänge wurden auch hier die Konzentrationen der Serumproben bestimmt.

Probleme traten beim ersten Durchlauf auf. Hier kam es zu keiner Färbung, sodass eine Wiederholung erfolgte und die Inkubation länger durchgeführt wurde. Zwischenzeitliche Bestimmungen der Proteinkonzentrationen lieferten gute Ergebnisse diesbezüglich. Nachdem auch die zweite Messreihe keine Ergebnisse lieferte, wurde Rücksprache mit der entsprechenden Firma gehalten, die Probleme

bei diesem Test-Kit einräumte. Mithilfe eines neuen Kits und in einem dritten Messverfahren konnten Werte ermittelt werden.

### **CBA FLEX Kit**

Für die Messung der Zytokine IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  wurde ein Cytometric Bead Array (CBA)-System von der Firma BD verwendet, ebenso wie für die Messung der Chemokine CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, CCL5/Human RANTES und CXCL9/MIG. Die Messung der Proben erfolgte gemäß der Anweisung des Herstellers.

Mithilfe der CBA-Technologie können die jeweils oben genannten Zytokine mit einer Probe gemessen und somit die Probenvolumina reduziert werden [29].

Das Prinzip des BD CBA Assays besteht darin, dass sogenannte Beads einen für ein Zytokin spezifischen Antikörper auf ihrer Oberfläche besitzen mit dem sie das Zytokin binden können. Anschließend bindet ein zweiter Antikörper an das Zytokin. Dieser ist mit dem Fluoreszenzfarbstoff Phycoerythrin (PE) versehen. Während der Inkubation entsteht ein sogenannter Sandwich-Komplex. Das bei der Durchflusszytometrie gemessene Fluoreszenzsignal der Sandwich-Komplexe ist dabei proportional zur gebundenen Menge des Parameters, womit auf die Konzentration rückgeschlossen werden kann. Zum Erhalt der grafischen Darstellung und der Daten in Tabellenform wird eine FCAP Array<sup>TM</sup>-Software benutzt [30].

### **BD CBA Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit / BD CBA Human Chemokine Kit**

Zunächst erfolgten Vorbereitungen, dabei wurde die Standardlösung mit 2 ml Assay Diluent versetzt und aufgelöst. Bei der Verwendung des Chemokine Kits mussten 4 ml des Assay Diluent verwendet werden. Im Anschluss fand eine Inkubation für 15 Minuten bei Raumtemperatur statt, woraufhin ein nochmaliges Mischen lediglich durch pipettieren erfolgte. Zur Herstellung der Verdünnungsreihe wurden 300  $\mu$ l des Assay Diluent in jedes der vorgegeben Röhrrchen pipettiert und im Anschluss 300  $\mu$ l von der Probe mit der höchsten Konzentration in das folgende Röhrrchen und weitere Pipettierungen durchgeführt, um eine absteigende Konzentration zu erreichen. Anschließend erfolgte die Herstellung des Bead-Mixes. Hierzu war zunächst die benötigte Anzahl der Teströhrrchen erforderlich, um die notwendige Menge der Bead-Lösung zu bestimmen. Die Bead-Suspension wurde durch Nutzung eines Vortex gemischt und die jeweilige Menge in die einzelnen Teströhrrchen gegeben. Diese



Mischung war für fünf Minuten zu zentrifugieren. Der entstandene Überstand (3 ml) konnte entfernt und Serum Enhancement Buffer in der gleichen Menge resuspendiert werden. Durch das Vortexen wurde die Lösung vermischt und im Anschluss vor Lichteinfluss geschützt bei Raumtemperatur für 15 Minuten inkubiert. Jetzt konnten 50 µl der vorbereiteten Bead-Lösung nach nochmaligen vortexen in die entsprechenden Röhrchen gegeben werden. Anschließend wurde die Standardlösung mit Negativ-Probe als auch die Proben zugefügt. Schlussendlich erfolgte noch die Zugabe von 50 µl der Detektionslösung. Die folgende Inkubation für drei Stunden im Dunkeln fand bei Raumtemperatur statt. Jede Probe erhielt nun 1 ml der Waschlösung, nachfolgend wurde erneut für fünf Minuten zentrifugiert und der Überstand aspiriert. Danach wurden nochmals 300 µl der Waschlösung hinzugegeben. Jetzt konnte die Messung durch ein Flow-Cytometer erfolgen.

### **3.5. Statistik**

Alle gewonnenen Daten wurden in Microsoft Office Excel 2007 eingegeben und mithilfe von IBM SPSS Statistics Subscription 2020, USA, Python 3.7.1 sowie der Berechnungsbibliothek Numpy v1.19.5 und Scipy v1.1.0 ausgewertet. Grafiken wurden mithilfe von Python 3.7.1 und der Visualisierungsbibliothek Matplotlib v3.0.2 und Seaborn 0.9.0 erstellt. Das Anfertigen von Tabellen erfolgte mit Microsoft Office Excel 2007, als auch mit dem verwendeten Textverarbeitungsprogramm Microsoft Office Word 2007.

Zur Beschreibung der deskriptiven Statistik wurden das arithmetische Mittel, der Median mit range, sowie Minimum und Maximum herangezogen.

Zur Ermittlung, ob ein Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen vorliegt, wurde mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests und dem exakten Test nach Fisher auf Signifikanz getestet. Das festgelegte Signifikanzniveau lag bei 0,05. Die Ermittlung der Korrelation für die gemessenen Parameter innerhalb der Gruppen erfolgte nach Spearman. Um die Stärke des Zusammenhangs einzuordnen, wurde die Einteilung nach Cohen verwendet: < 0,1 = schwacher, 0,1 - 0,5 = mittlerer und 0,5 - 1,0 = starker Zusammenhang.

## 4. Ergebnisse

Das EHEC-Register der DGfN bietet eine umfassende Informationsgrundlage, die dazu beiträgt verschiedene Denkansätze zu analysieren:

- Bestimmung pro- und antiinflammatorischer Zytokinkonzentrationen im Serum und Auswertung der Routinelaborparameter im Vergleich zwischen Patienten mit und ohne neurologische Symptome während einer EHEC-HUS-Erkrankung durch EHEC O104:H4,
- Effekt der Plasmapherese auf die Zytokinkonzentration im Serum,
- Effekt der Immunadsorption auf die Zytokinkonzentration im Serum.

Zur Verfügung standen insgesamt 621 Datensätze von Patienten aus dem DGfN-EHEC-Register und davon 95 Patienten mit Blutproben. Nach Durchsicht aller Informationen und Daten konnten wir 84 Patienten aus Gesamtdeutschland herausfiltern mit ausreichendem Informationsgehalt als Grundlage für die vorliegende Arbeit (ID-Nummer, Beschriftung der Blutprobe, Informationen zur Symptomatik, Therapie und Labor). Für diese Studie galten das Vorhandensein von Serumproben zum Aufnahmezeitpunkt der Hospitalisation oder vor jeglichem Therapiebeginn, Angaben zur neurologischen Symptomatik sowie weitere Angaben zum Krankheitsverlauf und das Vorhandensein weiterer Serumproben während des Krankheitsverlaufs als Einschlusskriterien. Insgesamt entsprachen 35 von 84 Patienten diesen Merkmalen. Die 35 ausgewählten Patienten wurden anhand der neurologischen Symptomatik in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe wurde von den Patienten mit neurologischen Symptomen und die andere Gruppe von den Patienten ohne neurologische Symptome gebildet (MNS vs. ONS). Davon wiesen insgesamt 27 Patienten (77,1 %) neurologische Symptome und 8 der 35 Patienten (22,9 %) keine auf. Im Vergleich zum EHEC-Register wiesen 67 der 84 Patienten (79,8 %) neurologische Symptome während ihrer Erkrankung auf, 14 (16,7 %) zeigten keine Symptome dieser Art und zu drei Patienten gab es keine Angabe. Der Altersdurchschnitt des ausgewählten Patientenkollektivs unserer Studie lag bei 45,7 Jahren, wobei der älteste Patient 74 Jahre und der jüngste 18 Jahre alt war. In der Gruppe der Patienten mit neurologischer Symptomatik lag das durchschnittliche Alter bei 45,5 Jahren und in der Vergleichsgruppe bei 46,5 Jahren. Der Frauenanteil unseres Patientenkollektivs betrug insgesamt 74,3 % und liegt damit minimal unter

dem des EHEC-Registers, wo er bei 80,9 % lag. Bei 32 der insgesamt 35 Patienten konnte mikrobiologisch EHEC in einer Stuhlprobe nachgewiesen werden, wobei einmal keine Information dazu vorlag und zwei Proben negativ getestet wurden. Im Vergleich dazu gab es bei den 84 Patienten des EHEC-Registers doppelt so viele negative EHEC-Proben (6-mal) und weitere sechsmal erfolgte keine Angabe. Die Dauer vom Auftreten der ersten klinischen Symptome bis zur Hospitalisation lag im Median bei unserer Studie bei sechs Tagen (range 0; 17), Hierbei konnte kein Unterschied zwischen der MNS- und ONS-Gruppe festgestellt werden. Die mediane Hospitalisierungszeit aller Patienten aus unserem Kollektiv lag bei 25 Tagen (range 3; 38), wobei die Patienten mit neurologischer Symptomatik im Median 27,5 Tage (range 4; 38) hospitalisiert waren und die mediane Liegedauer in der Gruppe ohne neurologische Symptome bei 9,5 Tagen (range 3; 33) lag. Alle 35 Patienten hatten Diarrhöe, wovon 29 eine blutige Diarrhöe aufwiesen. Die Kriterien eines hämolytisch-urämischen Syndroms erfüllten 33 von 35 Patienten (94,3 %) unseres Studienkollektivs. Insgesamt wiesen 76 der 84 (90,5 %) im EHEC-Register erfassten Patienten ein HUS auf. Fünf Patienten (6 %) der 84 Patienten litten an einer EHEC-Infektion ohne HU-Symptomatik und zu drei Patienten waren die Angaben unzureichend, um eine entsprechende Schlussfolgerung zu ziehen. Es waren sechs von 35 Patienten (17,1 %) unserer Studie beatmungspflichtig, wobei fünf (18,5 %) zur MNS-Gruppe gehörten und nur einer zur Vergleichsgruppe. Von den 84 Patienten mussten 30,9 % der erkrankten Patienten beatmet werden. Bei 45 der 84 Patienten (53,6 %) wurde eine Dialyse angewendet. Dies traf auch auf 15 unserer 35 Patienten zu, wovon 14 (81,5 %) neurologische Symptome aufwiesen. Drei von 35 Patienten sind verstorben. Die Basisdaten unseres Patientenkollektivs sowie des EHEC-Registers sind in Tab. 4.1 und Tab. 4.2 zusammengefasst.

**Tab. 4.1: Gegenüberstellung der Basisdaten der Patienten dieser Studie und des EHEC-Registers**

	Studienkollektiv*		EHEC-Register <sup>#</sup>	
<b>Anzahl n</b>	35		84	
<b>Alter in Jahren</b> Median (range)	45 (18;74)		46 (18;77)	
<b>Geschlecht</b>	26 Frauen (74,3 %)	9 Männer (25,7)	68 Frauen (80,9 %)	16 Männer (19,0 %)
<b>Anzahl n positiver EHEC-Nachweis in Stuhlprobe</b>	32		72	
<b>Anzahl n negativer EHEC-Nachweis in Stuhlprobe</b>	2		6	
<b>Anzahl n an Diarrhoe</b> davon blutig (n)	35 (100 %) 29 (82,8 %)		80 (95,2 %) 72 (85,7 %)	
<b>Anzahl n an HUS-Fällen</b>	33 (94,3 %)		76 (90,5 %)	
<b>Dauer bis zur Hospitalisation</b> Median (range)	6 Tage (0;17)		6 Tage (0;23)	
<b>Hospitalisationszeit</b> Median (range)	25 Tage (3;38)		28 (3;69)	
<b>Anzahl n der Patienten mit neurologischer Symptomatik</b>	27 (77,1 %)		67 (79,8 %)	
<b>Anzahl n der Patienten ohne neurologische Symptomatik</b>	8 (22,9 %)		14 (16,7 %)	
<b>Anzahl n an beatmungspflichtigen Patienten</b>	6 (17,1 %)		26 (30,9 %)~	
<b>Anzahl n an dialysepflichtigen Patienten</b>	15 (42,9 %)		45 (53,6 %)§	
<b>Anzahl n an Plasmapheresebehandlung</b>	28 (80 %)		72 (85,7 %)§	
<b>Anzahl n an verstorbenen Patienten</b>	3 (8,6 %)		5 (5,9 %)¶	

\* 1x keine Angabe zum mikrobiologischem EHEC-Nachweis aus einer Stuhlprobe

# 6x keine Angabe zum mikrobiologischem EHEC-Nachweis aus einer Stuhlprobe

~ 2x keine Angabe zur Beatmungspflichtigkeit

§ 3x keine Angabe zur Dialysepflicht

§ 1x keine Angabe zur Behandlung mit Plasmapherese

¶ 3x keine Angabe zum Exitus letalis

**Tab. 4.2: Gegenüberstellung der Basisdaten zwischen den Patientengruppen mit und ohne neurologische Symptome**

	Patienten mit neurologischen Symptomen*	Patienten ohne neurologische Symptome
<b>Anzahl n</b>	27	8
<b>Alter in Jahren</b>	45,5 (18;74)	46,5 (21;73)
<b>Anzahl n positiver EHEC-Nachweis in Stuhlprobe*</b>	25 (92,6)	8 (100 %)
<b>Anzahl n negativer EHEC-Nachweis in Stuhlprobe*</b>	2 (7,4 %)	0 (0 %)
<b>Anzahl n an Diarrhoe</b>	27 (100 %)	8 (100 %)
davon blutig	22 (81,5 %)	7 (87,5 %)
<b>Anzahl n an HUS-Fällen</b>	27 (100 %)	6 (75 %)
<b>Dauer bis zur Hospitalisation</b>		
Median (range)	6 Tage (0;17)	6 Tage (0;11)
<b>Hospitalisationszeit</b>		
Median (range)	27,5 Tage (4;38)	9,5 Tage (3;33)
<b>Anzahl n an beatmungspflichtigen Patienten</b>	5 (18,5 %)~	1 (12,5 %)
<b>Anzahl n an dialysepflichtigen Patienten</b>	14 (81,5 %)§	1 (12,5 %)
<b>Anzahl n an Plasmapheresebehandlung</b>	23 (85,2 %)	5 (62,5 %)
<b>Anzahl n an verstorbenen Patienten</b>	2 (7,4 %)¶	1 (12,5 %)

\* 1x keine Angabe zum mikrobiologischem EHEC-Nachweis aus einer Stuhlprobe

¶ 1x keine Angabe zum Exitus letalis

~ 1x keine Angabe zur Beatmungspflichtigkeit

§ 1x keine Angabe zur Dialysepflicht

In dem Register der DGfN wurden folgende neurologische Symptome erfasst: Kopfschmerzen, Verwirrtheit, Persönlichkeitsveränderungen, Sehstörungen, Sprachstörungen und Krampfanfälle. 17 von 27 Patienten (47 %) davon zeigten Verwirrheitszustände als häufigstes neurologisches Symptom, gefolgt von Sprachstörungen und Persönlichkeitsveränderungen mit jeweils 44 %, die 16/27 Patienten betroffen haben. Sehstörungen wiesen 11/27 (31 %) der neurologisch auffälligen Patienten auf und Krampfanfälle boten 6/27 der Patienten (17 %). Die Tab. 4.3 zeigt eine Zusammenfassung der Verteilung der neurologischen Symptomatik.

**Tab. 4.3: Art sowie absoluter und prozentualer Anteil der neurologischen Symptome**

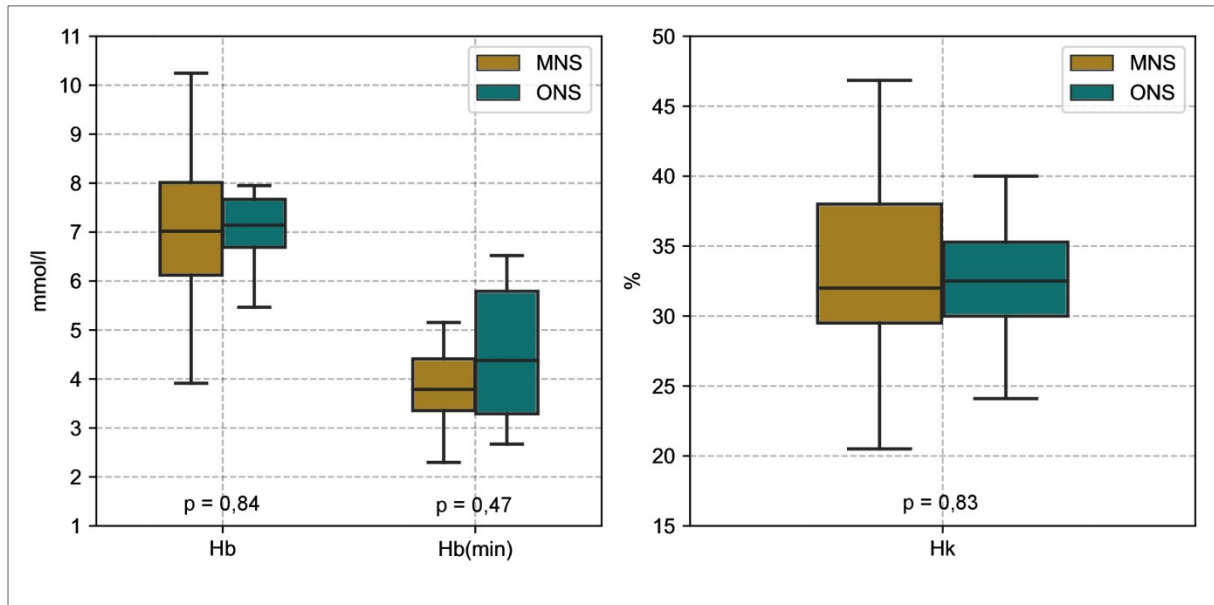
Neurologie	Anzahl n	Prozentualer Anteil [%]
Kopfschmerzen	9/ 27	25
Verwirrtheit	17/ 27	47
Persönlichkeitsveränderung	16/ 27	44
Sprachstörung	16/ 27	44
Sehstörung	11/ 27	31
Epileptische Anfälle	6/ 27	17

#### 4.1. Ergebnisse der Paraklinik

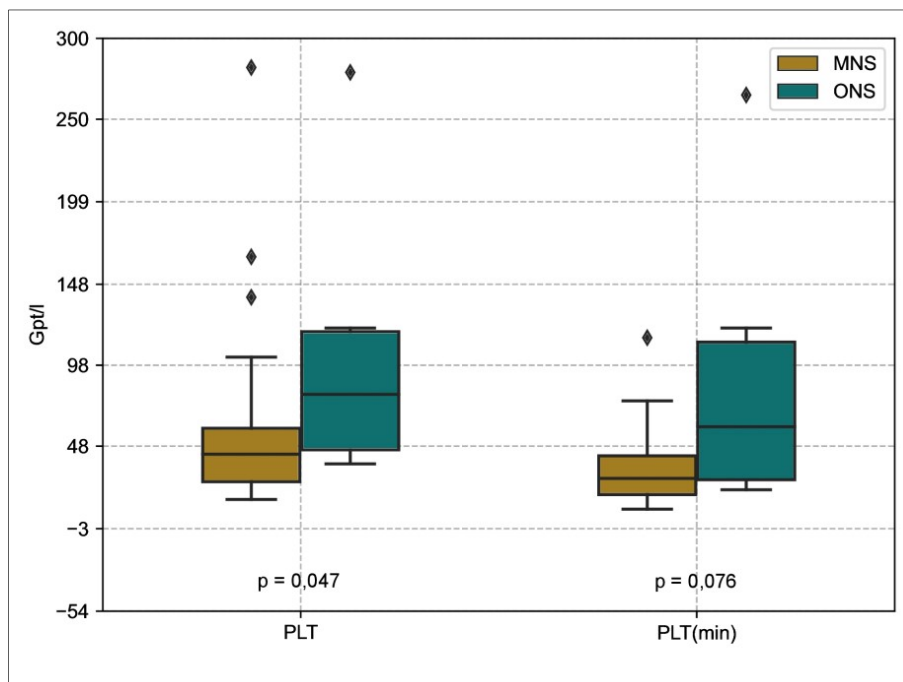
Mithilfe des Registers konnte von im Schnitt 34 Patienten, welche unseren Kriterien zur Auswahl der Proben entsprachen, die Paraklinik zwischen den beiden Patientengruppen verglichen werden. Durch fehlende Angaben ergab sich für die einzelnen Parameter eine unterschiedliche Gesamtanzahl (n) von Patienten. Betrachtet wurden Hämoglobin bei Aufnahme, niedrigster Hämoglobinwert während des Krankheitsverlaufs, Hämatokrit bei Aufnahme, Thrombozyten bei Aufnahme sowie deren niedrigster Wert im Verlauf, LDH bei Aufnahme und maximaler LDH-Wert während der Krankheitsphase und dies ebenso für Kreatinin und außerdem noch ob eine Hämaturie vorhanden war. Zusätzlich wurde die glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) bei Aufnahme sowie der geringste Wert im Verlauf mittels der MDRD-Formel bestimmt.

In der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen war die Anzahl der Thrombozyten signifikant niedriger als bei den Patienten ohne neurologische Symptome ( $p = 0,047$ ). Eine Tendenz, die allerdings in der vorliegenden Population aufgrund der geringen Anzahl an Studienpatienten nicht signifikant ist, zeigte sich auch für die minimale Thrombozytenzahl im Verlauf ( $p = 0,076$ ). Des Weiteren konnte eine signifikant höhere mediane Konzentration des Serumkreatinins ( $p = 0,019$ ) und der maximalen Serumkreatininkonzentration ( $p = 0,033$ ) in der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen festgestellt werden. Die eGFR war in der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen signifikant niedriger ( $p = 0,011$ ), ebenso war die minimale eGFR im Verlauf signifikant niedriger ( $p = 0,023$ ). Auch eine Hämaturie trat signifikant häufiger bei den Patienten mit neurologischer Symptomatik auf ( $p = 0,043$ ), der Effekt bzw. Unterschied ist dabei mittelstark

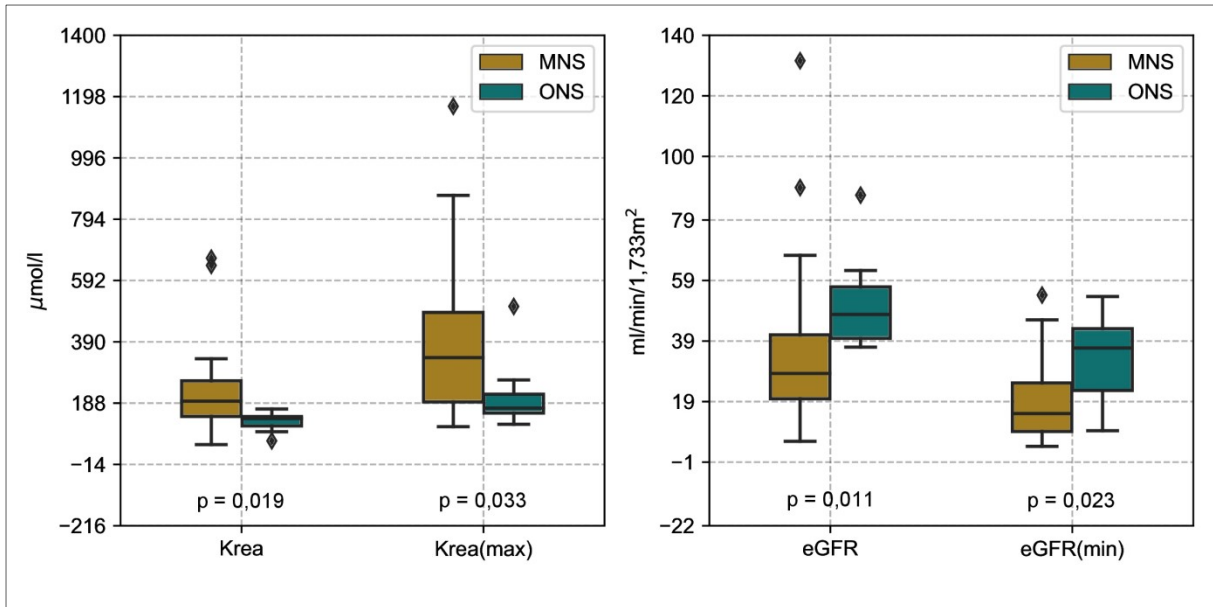
ausgeprägt ( $\Phi = 0,384$ ). Im Folgenden werden Boxplots als grafische Darstellung der verschiedenen Parameter der Paraklinik aufgezeigt. Die Ergebnisse werden anhand der Tab. 4.4 auf Seite 46 zusammengefasst.



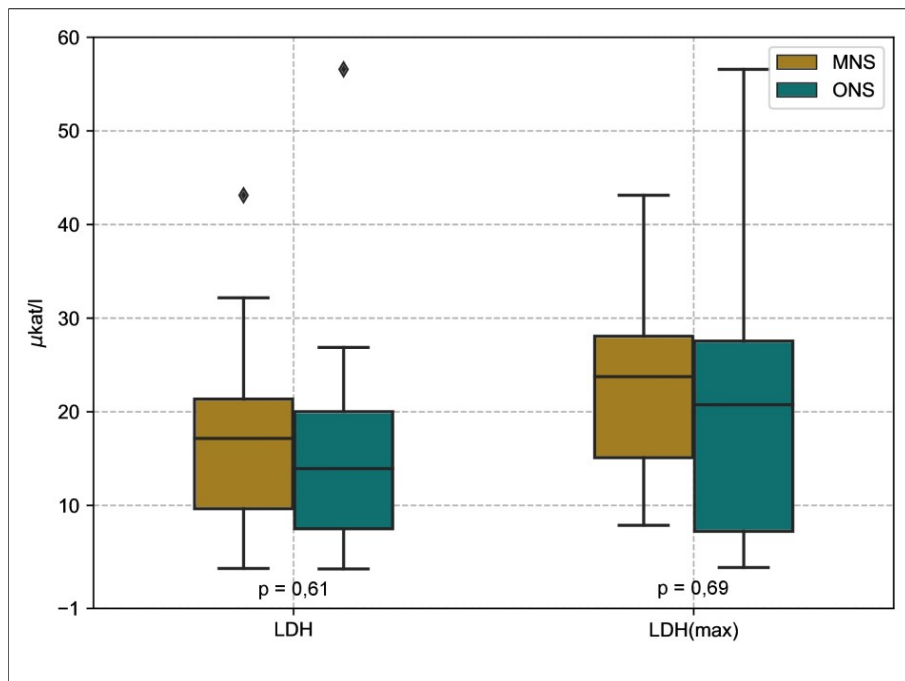
**Abb. 4.1:** Es ergab sich kein signifikanter Unterschied für die Konzentration von Hämoglobin (Hb) zum Zeitpunkt der Aufnahme wie auch für den minimalen Hämoglobinwert im Verlauf (Hb min) zwischen den Patientengruppen mit neurologischen Symptomen (MNS) und ohne neurologische Symptome (ONS). Auch der Hämatokrit (Hk) war zum Zeitpunkt der Aufnahme nicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Patientengruppen.



**Abb. 4.2:** Die Thrombozytenzahl bei Aufnahme war bei den Patienten mit neurologischen Symptomen (MNS) signifikant niedriger als bei denen ohne neurologische Symptome (ONS) ( $p = 0.047$ ). Für die minimalsten Thrombozytenzahlen im Verlauf gab es keinen signifikanten Unterschied.

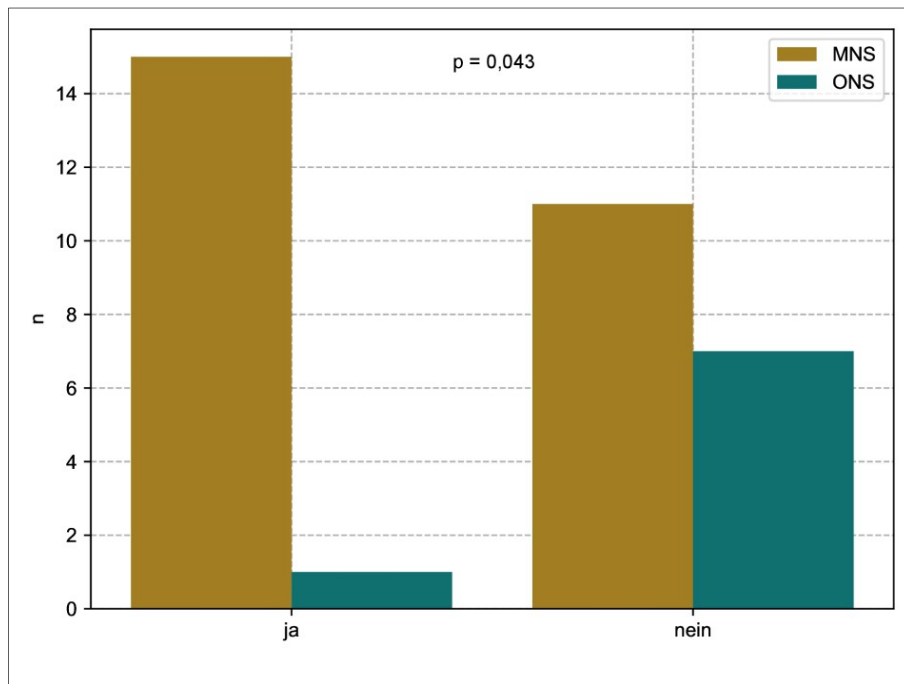


**Abb. 4.3:** Die Serumkonzentration von Kreatinin (Krea) zum Zeitpunkt der Aufnahme ( $p = 0,019$ ) und die maximale Kreatininkonzentration im Verlauf (Krea max) ( $p = 0,033$ ) waren signifikant höher bei den Patienten mit neurologischen Symptomen (MNS) als bei der Patientengruppe ohne neurologische Symptome (ONS). Zum Aufnahmezeitpunkt war die glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) ( $p = 0,011$ ) als auch die niedrigste glomeruläre Filtrationsrate im Verlauf (eGFR min) ( $p = 0,023$ ) signifikant niedriger für die Patientengruppe mit neurologischen Symptomen als bei den Patienten ohne neurologische Symptome.



**Abb. 4.4:** Es ergab sich kein signifikanter Unterschied für die Serumkonzentration der Laktatdehydrogenase (LDH) zum Zeitpunkt der Aufnahme und der maximalen Konzentration im Verlauf (LDH max) für die Patientengruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) und ohne neurologische Symptome (ONS).





**Abb. 4.5:** Die Anzahl  $n$  der Patienten mit Hämaturie war signifikant höher in der Gruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) als in der Gruppe ohne neurologische Symptome (ONS) ( $p = 0,043$ ).

## 4.2. Ergebnisse der Zytokinbestimmung

Bei der Messung der Proben zu den Zytokinparametern ergaben sich unterschiedliche Gesamtanzahlen für die zwei zu vergleichenden Gruppen. Die nachfolgende Tab. 4.5 auf Seite 47 zeigt eine Übersicht. Die unterschiedliche Gesamtanzahl  $n$  ergibt sich zum einen aus Fehlmessungen und daraus, dass damit kein Material mehr zur Verfügung stand und explizit Messergebnisse ober- oder unterhalb des Standards nicht mit berücksichtigt wurden.

Weder in der Gruppe der Interleukine noch in der Gruppe der Chemokine fanden wir bei den gemessenen Parametern einen signifikanten Unterschied zwischen den Patientengruppen mit und ohne neurologische Symptome. Einen Überblick über die Mediane (range) und die einzelnen Signifikanzniveaus geben die im Anschluss dargestellte Tab. 4.6 auf Seite 47 sowie die folgenden grafischen Abb. 4.6 und Abb. 4.7. Tendenzen, die allerdings in dem vorliegenden Studienkollektiv aufgrund der niedrigen Teilnehmerzahl nicht signifikant sind, zeigten sich bezüglich IL-17A (höher bei neurologischer Symptomatik) sowie bei CCL2/MCP-1 und CCL5/Human Rantes (niedriger bei neurologischer Symptomatik). Für sTNFR1 konnte ebenfalls kein signifikanter Unterschied bestimmt werden.

**Tab. 4.4: Zusammenfassung der paraklinischen Werte**

Parameter	Patienten mit neurologischen Symptomen	Patienten ohne neurologische Symptome	p-Wert
<b>Hb [mmol/l]</b> Anzahl Median (range)	n = 27 7,0 (3,9; 10,2)	n = 8 7,1 (5,5; 7,9)	Nicht signifikant p = 0,84
<b>Hb min. [mmol/l]</b> Anzahl Median (range)	n=25 3,8 (2,3; 5,2)	n = 6 4,4 (2,7; 6,5)	Nicht signifikant p = 0,47
<b>Hk [%]</b> Anzahl Median (range)	n = 27 32 (20,5; 46,9)	n = 8 32,5 (24,1; 40,0)	Nicht signifikant p = 0,83
<b>PLT [Gpt/L]</b> Anzahl Median (range)	n = 27 43 (15; 282)	n = 8 80 (37;279)	Signifikant <b>p = 0,047</b>
<b>PLT min. [Gpt/L]</b> Anzahl Median (range)	n = 25 28 (9; 115)	n=6 60 (21; 265)	Nicht Signifikant p = 0,076
<b>Kreatinin [µmol/l]</b> Anzahl Median (range)	n = 27 194,5 (51,3; 665,7)	n = 8 137,0 (63,6; 168,8)	Signifikant <b>p = 0,019</b>
<b>Kreatinin max. [µmol/l]</b> Anzahl Median (range)	n = 26 338,1 (110,5; 1166,0)	n = 8 171,5 (118,5; 506,5)	Signifikant <b>p = 0,033</b>
<b>eGFR [ml/min/1,73m<sup>2</sup>]</b> Anzahl Median (range)	n = 27 28,3 (5,9; 131,6)	n = 8 47,8 (37; 87,2)	Signifikant <b>p = 0,011</b>
<b>eGFR min. [ml/min/1,73m<sup>2</sup>]</b> Anzahl Median	n = 26 15,1 (4,2; 54,2)	n = 8 36,7 (9,4; 53,7)	Signifikant <b>p = 0,023</b>
<b>LDH (µkat/L)</b> Anzahl Median (range)	n = 27 17,15 (3,27; 43,13)	n=8 13,93 (3,22; 56,58)	Nicht signifikant p = 0,61
<b>LDH max. (µkat/L)</b> Anzahl Median (range)	n = 25 23,75 (7,87; 43,13)	n = 6 20,75 (3,37; 56,58)	Nicht signifikant p = 0,69
<b>Hämaturie</b> Anzahl	15/26	1/8	Signifikant <b>p = 0,043</b>

Angabe von Anzahl = n, Median (range) und p-Werten, die nach dem Mann-Whitney-U-Test und dem exakten Test nach Fisher bestimmt wurden, das Signifikanzniveau wurde auf  $\leq 0,05$  festgelegt.  
Hb = Hämoglobin, Hk = Hämatokrit, PLT = Thrombozyten, eGFR = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; LDH = Laktatdehydrogenase.

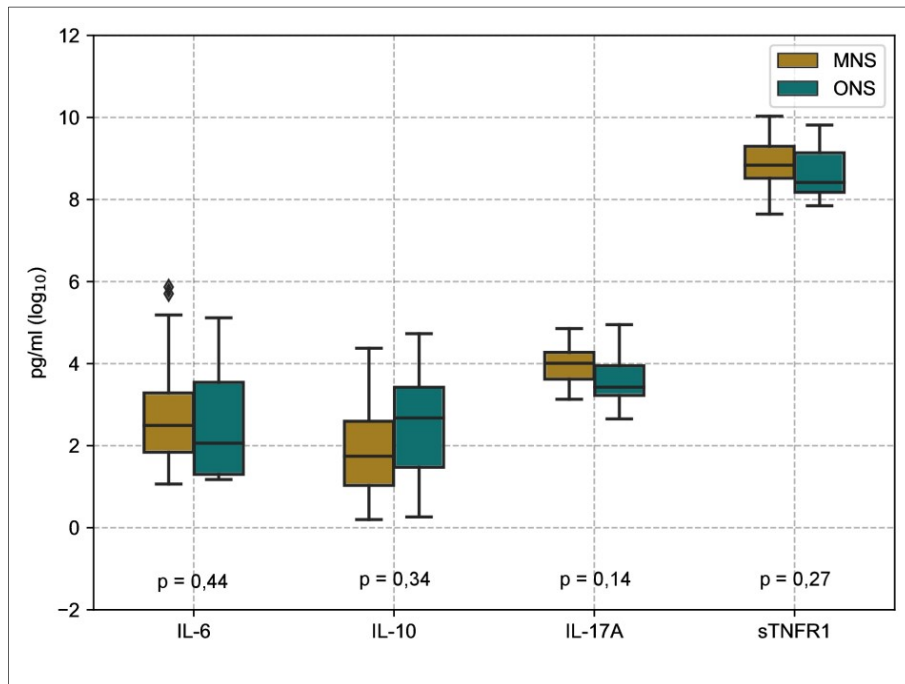
**Tab. 4.5: Anzahl der zur Verfügung stehenden analysierten Proben**

	Anzahl der Patienten (n) mit neurologischen Symptomen	Anzahl der Patienten (n) ohne neurologische Symptome
sE-Selectin, MMP9	27	8
sTNFR1	26	8
TIMP1	25	8
IL-6	23	8
IL-10	24	8
IL-17A	21	7
CXCL9/MIG, CCL2/MCP-1 und CXCL10/IP-10	26	8
CXCL8/IL-8	25	8
CCL5/Human RANTES	19	5

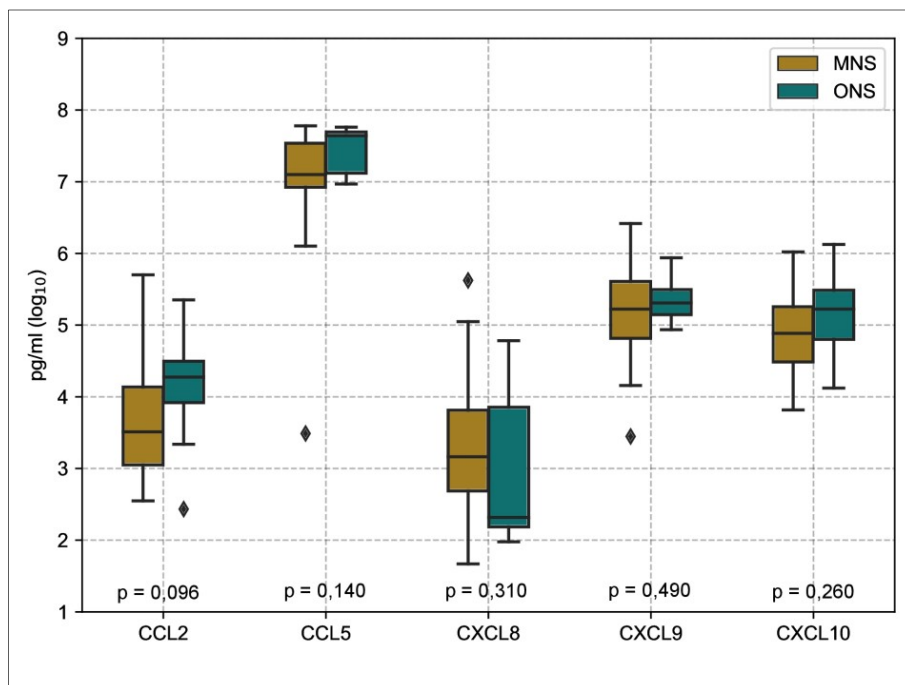
**Tab. 4.6: Zusammenfassung der Serumkonzentrationen der Zytokine**

Zytokin	Patienten mit neurologischen Symptomen	Patienten ohne neurologische Symptome	p-Wert
<b>IL-6 [pg/ml]</b> Median (range)	12,1 (2,9; 353,11)	8,34 (3,23; 166,59)	Nicht signifikant p = 0,44
<b>IL-17A [pg/ml]</b> Median (range)	54,98 (22,91; 128,14)	30,74 (14,16; 141,23)	Nicht signifikant p = 0,14
<b>IL-10 [pg/ml]</b> Median (range)	5,71 (1,22; 79,32)	17,19 (1,3; 113,31)	Nicht signifikant p = 0,34
<b>CCL2/MCP-1 [pg/ml]</b> Median (range)	33,58 (12,79; 299,36)	71,93 (11,40; 211,07)	Nicht signifikant p = 0,096
<b>CCL5/Human Rantes [pg/ml]</b> Median (range)	1211,30 (32,73; 2392,94)	2084,41 (1062,35; 2349,00)	Nicht signifikant p = 0,14
<b>CXCL8/IL-8 [pg/ml]</b> Median (range)	23,65 (5,31; 276,92)	10,21 (7,23; 119,42)	Nicht signifikant p = 0,31
<b>CXCL9/MIG [pg/ml]</b> Median [pg/ml] (range)	185,79 (31,40; 612,02)	202,51 (139,35; 379,81)	Nicht signifikant p = 0,49
<b>CXCL10/IP-10 [pg/ml]</b> Median (range)	132,33 (45,44; 412,17)	185,90 (61,66; 457,31)	Nicht signifikant p = 0,26
<b>sTNFR1 [pg/ml]</b> Median (range)	6895,83 (2091,83; 22734,83)	4531,58 (2555,83; 18295,83)	Nicht signifikant p = 0,27

Angabe von Median (range) und p-Werten, die nach dem Mann-Whitney-U-Test bestimmt wurden, das Signifikanzniveau wurde auf  $\leq 0,05$  festgelegt.



**Abb. 4.6:** Serumkonzentrationen der Interleukine und von sTNFR1 jeweils für die Gruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) und ohne neurologische Symptome (ONS). Es ergab sich für kein Interleukin ein signifikanter Unterschied.



**Abb. 4.7:** Serumkonzentrationen der Chemokine für die Patientengruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) und ohne neurologische Symptome (ONS). Es ergab sich für kein Chemokin ein signifikanter Unterschied.

### 4.3. Ergebnisse für das Adhäsionsmolekül sE-Selektin und die Matrix-Metalloproteinase MMP9 sowie dessen Inhibitor TIMP1

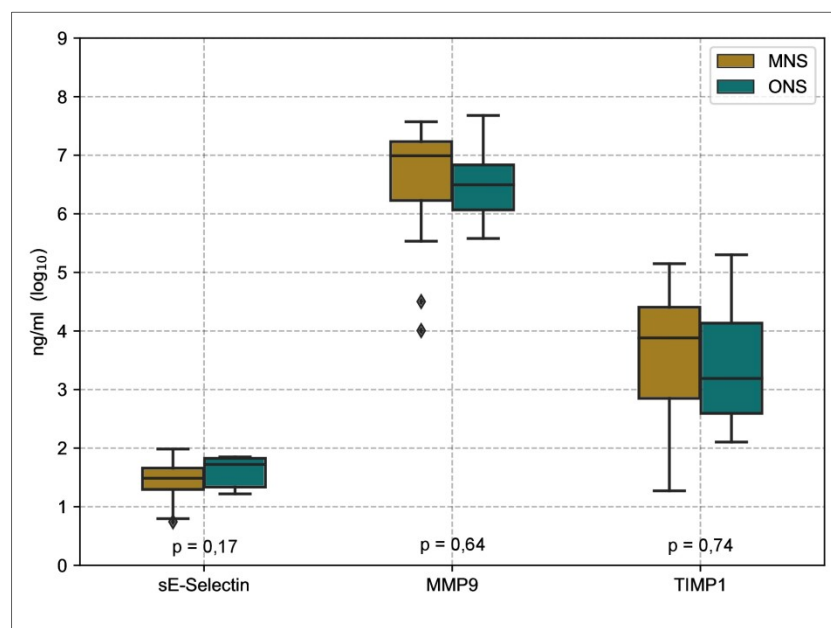
Wie auch für die oben genannten Zytokine konnte weder für sE-Selektin noch für MMP9 oder dessen Inhibitor TIMP1 ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Einen Überblick der Medianwerte sowie des p-Wertes liefert die folgende Tab. 4.7 und zur besseren Darstellung die einzelnen Boxplots in der Abb. 4.8 für die oben genannten Parameter.

**Tab. 4.7: Zusammenfassung der Serumkonzentrationen von sE-Selectin, MMP9 und TIMP1**

Parameter	Patienten mit neurologischen Symptomen	Patienten ohne neurologische Symptome	p-Wert
<b>sE-Selectin [ng/ml]</b> Median (range)	4,42 (2,10; 7,28)	5,61 (3,38; 6,35)	Nicht signifikant $p = 0,17$
<b>MMP9 [ng/ml]</b> Median (range)	1086,77 (54,94; 1941,46)	668,76 (264,58; 2163,76)	Nicht signifikant $p = 0,64$
<b>TIMP1 [ng/ml]</b> Median (range)	48,45 (3,56; 172,03)	22,28 (2,89; 200,50)	Nicht signifikant $p = 0,74$

Angabe von Median (range) und p-Werten, welche nach dem Mann-Whitney-U-Test bestimmt wurden, das Signifikanzniveau wurde auf  $\leq 0,05$  festgelegt.



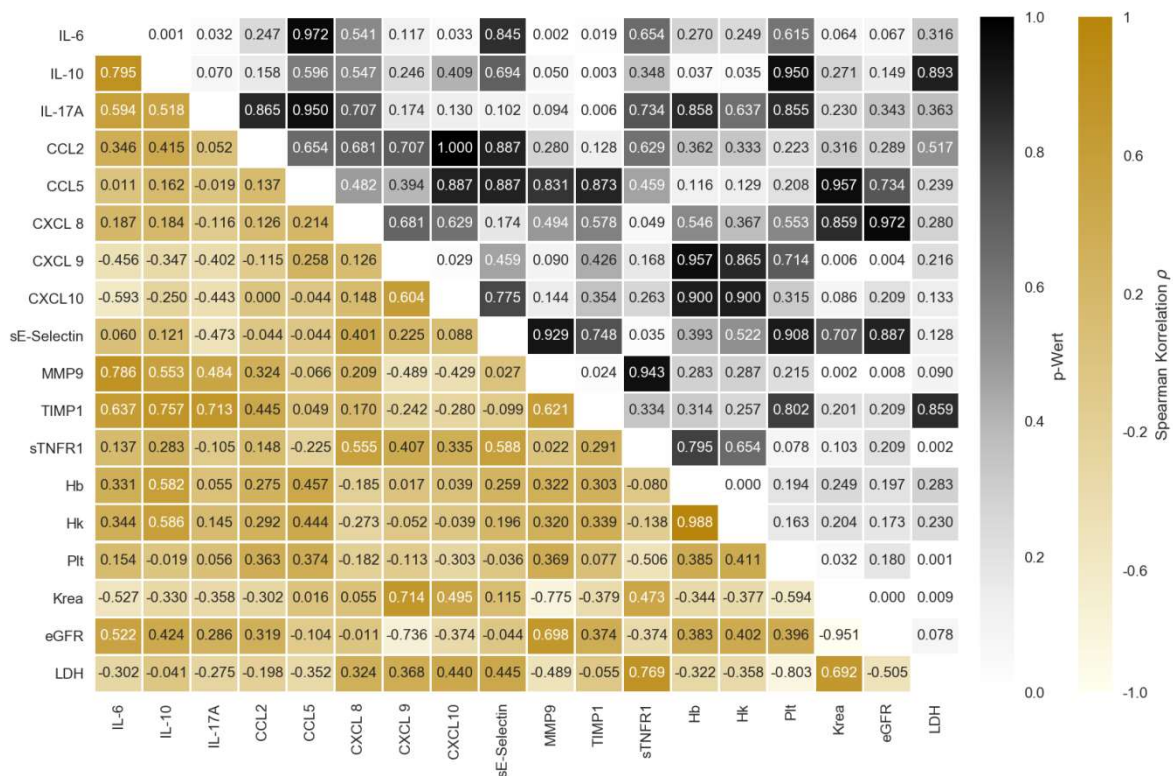
**Abb. 4.8:** Serumkonzentration für sE-Selectin und MMP9, sowie TIMP1 jeweils für die Gruppe mit neurologischen Symptomen (MNS) und ohne neurologische Symptome (ONS). Für keinen der Parameter ergab sich ein signifikanter Unterschied.

#### **4.4. Betrachtung der Zytokine und der Paraklinik innerhalb der Patientengruppen mit und ohne neurologische Symptome**

Aufgrund der bisher gewonnenen Ergebnisse wurde der Zusammenhang der einzelnen Zytokine und Entzündungsmediatoren sowie des Routinelabors innerhalb der beiden Gruppen betrachtet. Die Abb. 4.9 und Abb. 4.10 zeigen die einzelnen Korrelationskoeffizienten und die dazugehörigen p-Werte auf.

##### **Korrelationen der MNS-Gruppe**

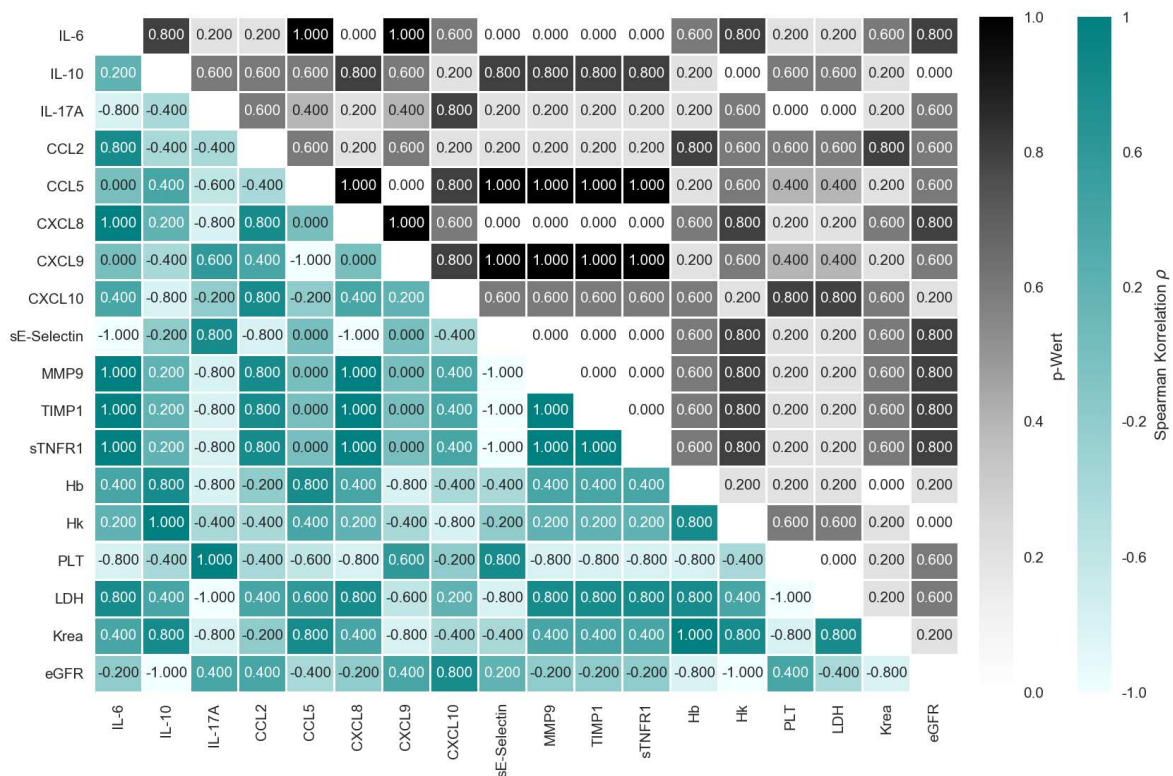
In der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen ergaben sich vor allem signifikante, starke Korrelationen zwischen den Interleukinen. Dies ließ sich in der Gruppe der Patienten ohne neurologische Symptome nicht nachweisen. Es besteht ebenfalls eine mittlere bis starke Korrelation zwischen den Interleukinen und MMP9 sowie dessen Gegenspieler TIMP1, welche entweder auch signifikant sind oder zumindest eine deutliche Tendenz aufweisen. MMP9 und TIMP1 an sich weisen ebenfalls eine signifikante, stark positive Korrelation auf, ebenso wie sTNFR1 und CXCL8 als auch sTNFR1 und sE-Selectin. In der Gruppe der Chemokine zeigten lediglich CXCL9 und CXCL10 eine starke Korrelation auf, die signifikant ist. Beide Parameter zeigen eine signifikante, starke bzw. mittlere Korrelation gegenüber Kreatinin. Bei Betrachtung der Paraklinik konnten wir feststellen, dass es eine signifikant negative Korrelation zwischen der Kreatininkonzentration und der Thrombozytenanzahl gibt, wie auch zwischen LDH und der Thrombozytenanzahl - als Ausdruck des HUS. Die starke Korrelation von Anzahl der Thrombozyten und der Konzentration von sTNFR1 ist ebenfalls negativ, konnte aber nicht mit einem signifikanten Unterschied belegt werden. Auch zwischen sTNFR1 und LDH besteht ein signifikanter starker Zusammenhang. Bei den Interleukinen liegt nur bei IL-10 zu Hämoglobin und Hämatokrit eine starke Korrelation, welche signifikant ist, vor.



**Abb. 4.9:** Korrelationsmatrix aller Parameter der Gruppe mit neurologischen Symptomen und deren p-Werte.

### Korrelationen der ONS-Gruppe

Eine starke Korrelation scheint zwischen IL-6 und CXCL8, MMP9, TIMP1 und sTNFR1, wie auch zwischen CXCL8 und den drei letztgenannten Entzündungsmediatoren als auch zwischen MMP9, TIMP1 und sTNFR1 untereinander vorzuliegen. Eine starke, negative Korrelation weist sE-Selectin gegenüber all den eben angesprochenen Parameter auf. Wie auch in der Gruppe der Patienten mit den neurologischen Symptomen besteht zwischen IL-10 und dem Hämatokrit eine stark positive Korrelation, die signifikant ist. Zwischen den Thrombozyten und LDH liegt eine stark negative, signifikante Korrelation vor.



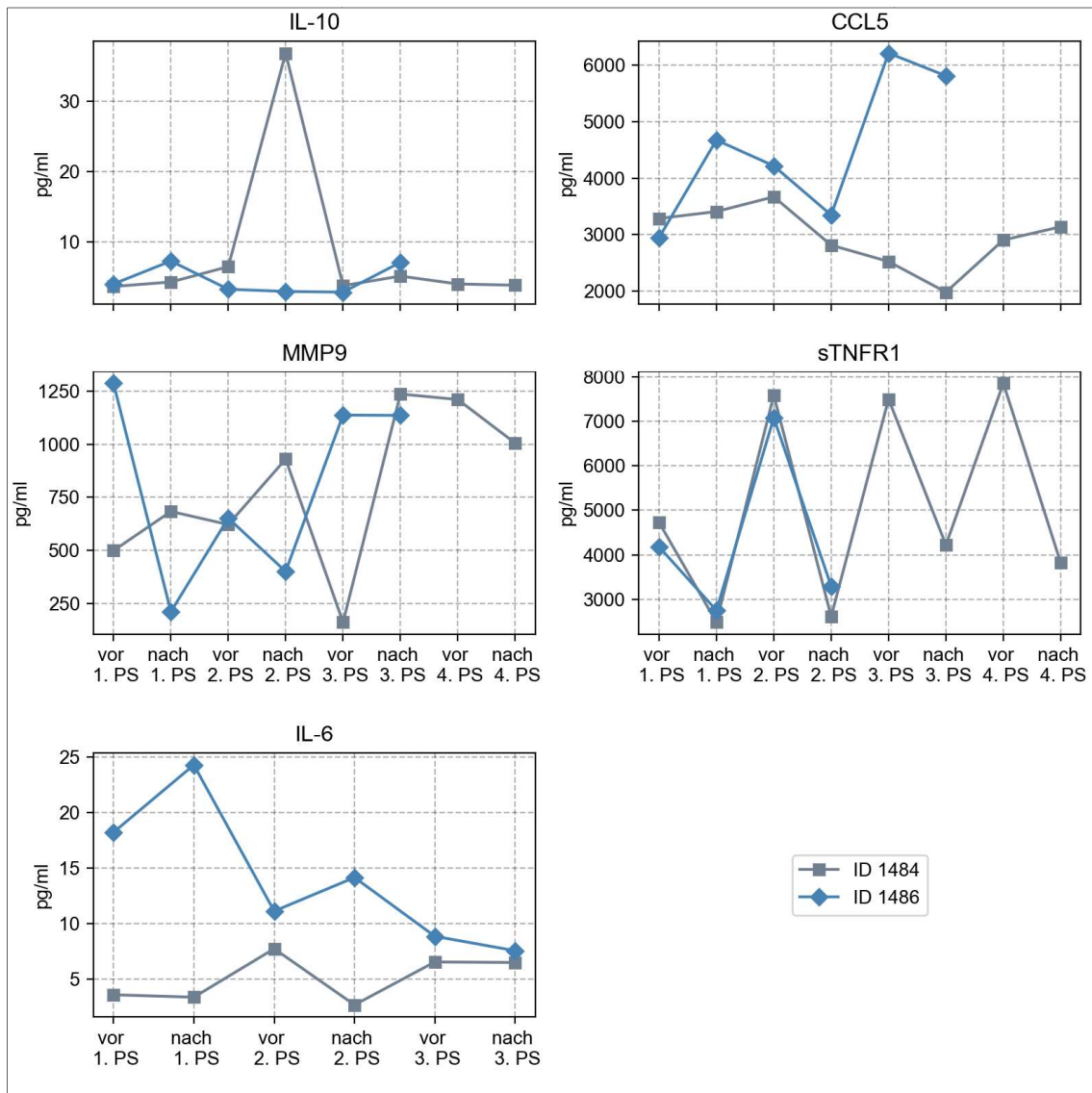
**Abb. 4.10:** Korrelationsmatrix aller Parameter der Gruppe ohne neurologische Symptome und deren p-Werte.

## 4.5. Gegenüberstellung der Wirkung von Plasmapherese und Immunadsorption

### 4.5.1. Effekt der Plasmapherese auf die Konzentration der Entzündungsmediatoren

Um den Verlauf der Parameter während der Behandlung mit Plasmapherese besser beurteilen zu können, wurden von zwei Patienten aus dem EHEC-Register die Konzentrationen der jeweiligen Parameter vor und nach Durchführung der Plasmapherese analysiert. Einen Gesamtüberblick über die Mediane und Einzelverläufe wird anhand der Tab. 4.8 auf Seite 54 und Tab. 4.9 im Anhang, in der die Ergebnisse zusammengetragen wurden, dargestellt. Der zeitliche Verlauf von IL-6, IL-10, CCL5, MMP9 und sTNFR1 wird in der folgenden Abb. 4.11 abgebildet.





**Abb. 4.11:** Darstellung des Verlaufs der Serumkonzentrationen von IL-6, IL-10, CCL5, MMP9 und sTNFR1 unter der Therapie mit Plasmapherese.

### IL-6

Der Median liegt bei 8,87 pg/ml (3,60; 18,24) vor Anwendung des Verfahrens und nach der Anwendung bei 7,57 pg/ml (2,69; 24,31). Dies entspricht einer Reduktion von IL-6 von 14,6 %.

### IL-10

Die höheren Konzentrationen für IL-10 konnten nach den Plasmapheresesitzungen gemessen werden. Der Median lag hier bei 5,11 pg/ml (2,93; 36,81), wohingegen zuvor der Median bei 3,75 pg/ml (2,83; 6,45) lag. Dies entspricht einem Anstieg von 36,3 %.

## CCL5

Der Median für die Messungen, welche vor der Plasmapherese bestimmt wurden, lag bei 3285,11 pg/ml (2524,03; 6210,74) und nach der Plasmapherese bei 3345,91 pg/ml (1982,17; 5808,72). Dies ergibt eine prozentuale Zunahme von 1,8 %.

## MMP9

Der Median für MMP9 vor der Therapie mit Plasmapherese lag bei 652,33 ng/ml (162,67; 1286,89) und im Anschluss bei 930,11 ng/ml (212,22; 1236,11). Somit kommt es zu einem Anstieg von 42,6 %.

## sTNFR1

Der Median für sTNFR1 vor der Plasmapherese lag bei 7286,39 pg/ml (4182,67; 7851,75) und nach der Plasmapheresebehandlung bei 3027,59 pg/ml (2490,21; 4225,33). Der Wert konnte durch die Plasmapherese um 58,4 % reduziert werden.

**Tab. 4.8: Effekt der Plasmapherese auf die Serumkonzentrationen der pro- und antiinflammatorischen Zytokine**

	vor Plasmapherese	nach Plasmapherese	Prozent
<b>IL-6 [pg/ml]</b> Median (range)	8,87 (3,6; 18,24)	7,57 (2,69; 24,31)	↓ 14,6 %
<b>IL-10 [pg/ml]</b> Median (range)	3,75 (2,83; 6,45)	5,11 (2,93; 36,81)	↑ 36,3 %
<b>CCL5 [pg/ml]</b> Median (range)	3285,11 (2524,03; 6210,74)	3345,91 (1982,17; 5808,72)	↑ 1,8 %
<b>MMP9 [ng/ml]</b> Median (range)	652,33 (162,67; 1286,89)	930,11 (212,22; 1236,11)	↑ 42,6 %
<b>sTNFR1 [pg/ml]</b> Median (range)	7286,39 (4182,67; 7851,75)	3027,59 (2490,21; 4225,33)	↓ 58,4 %

Angabe von Median (range) und die prozentuale Veränderung, die durch die Plasmapherese bewirkt wurde.

Wie vor allem die Grafiken der Einzelverläufe zeigen, scheint die Plasmapherese keinen Einfluss auf die oben genannten Parameter zu haben, wobei es sich hier um exemplarische Fallbeispiele handelt.

#### **4.5.2. Effekt der Immunadsorption auf die Konzentration der Entzündungsmediatoren**

Ähnlich gingen wir bei der Analyse der Proben der Greifswalder Patienten vor, welche mit Immunadsorption behandelt wurden. Hierbei wurden die Serumkonzentrationen während der Erkrankung täglich bestimmt und dabei insbesondere die Veränderungen der Parameter im Zusammenhang mit der Immunadsorption berücksichtigt. IL-17A wurde bei den an der UMG behandelten Patienten zusätzlich zu den Parametern, welche bei den Patienten mit Plasmapheresebehandlung bestimmt wurden, gemessen. Insgesamt wurden die Proben von vier Patienten untersucht. Bei zwei von vier Patienten konnten beide Zyklen der Immunadsorptionsbehandlungen mit entsprechenden Messproben berücksichtigt werden und bei den anderen zwei Patienten jeweils nur ein Zyklus der Immunadsorption. Die Abb. 4.12 stellt die Veränderung der Konzentrationen der untersuchten Parameter in Abhängigkeit der Immunadsorption dar und im Anschluss liefert die Tab. 4.10 die Mediane. Die Einzelwerte sind in Tab. 4.11 im Anhang abgebildet.

#### **IL-6**

Von allen vier Patientenproben konnte von IL-6 ein Ergebnis gewonnen werden. Gesamt betrachtet lag der Median vor der Immunadsorption bei 346,92 pg/ml (40,18; 17610,71) und nach der Anwendung bei 31,97 pg/ml (3,03; 1223,87), was einer Reduktion von 90,8 % entspricht, wobei eine breite Streuung der Werte zwischen den einzelnen Patienten zu verzeichnen war.

#### **IL-10**

In die Ergebnisse der Messungen für IL-10 flossen alle vier Patientenproben ein. Der Median lag vor dem Immunadsorptionsverfahren bei 9,14 pg/ml (6,54; 31,03) und im Anschluss bei 5,33 pg/ml (4,24; 9,62). Das entspricht einer Reduktion von 41,7 %.

#### **IL-17A**

Bei der Messung des IL-17A konnte nur von zwei Patienten die jeweils erste Immunadsorptionssitzung berücksichtigt werden. So ergab sich ein Median von 2,39 pg/ml (1,73; 3,04) vor der Behandlung und ein Median von 1,88 pg/ml (1,34; 2,41) nach der Behandlung. Dies ergibt einen prozentualen Unterschied von 21,3 %.

## **CCL5**

Die Immunadsorption scheint, wie in Abb. 15 zu sehen, keinen Einfluss auf die CCL5-Konzentrationen zu haben. Bei 75 % der Patienten kam es zu einem Anstieg der Werte nach der ersten Sitzung. Bei zwei Patienten zeigte sich nach dem zweiten Zyklus trotzdem ein Abfall der Konzentration von CCL5 im Blut.

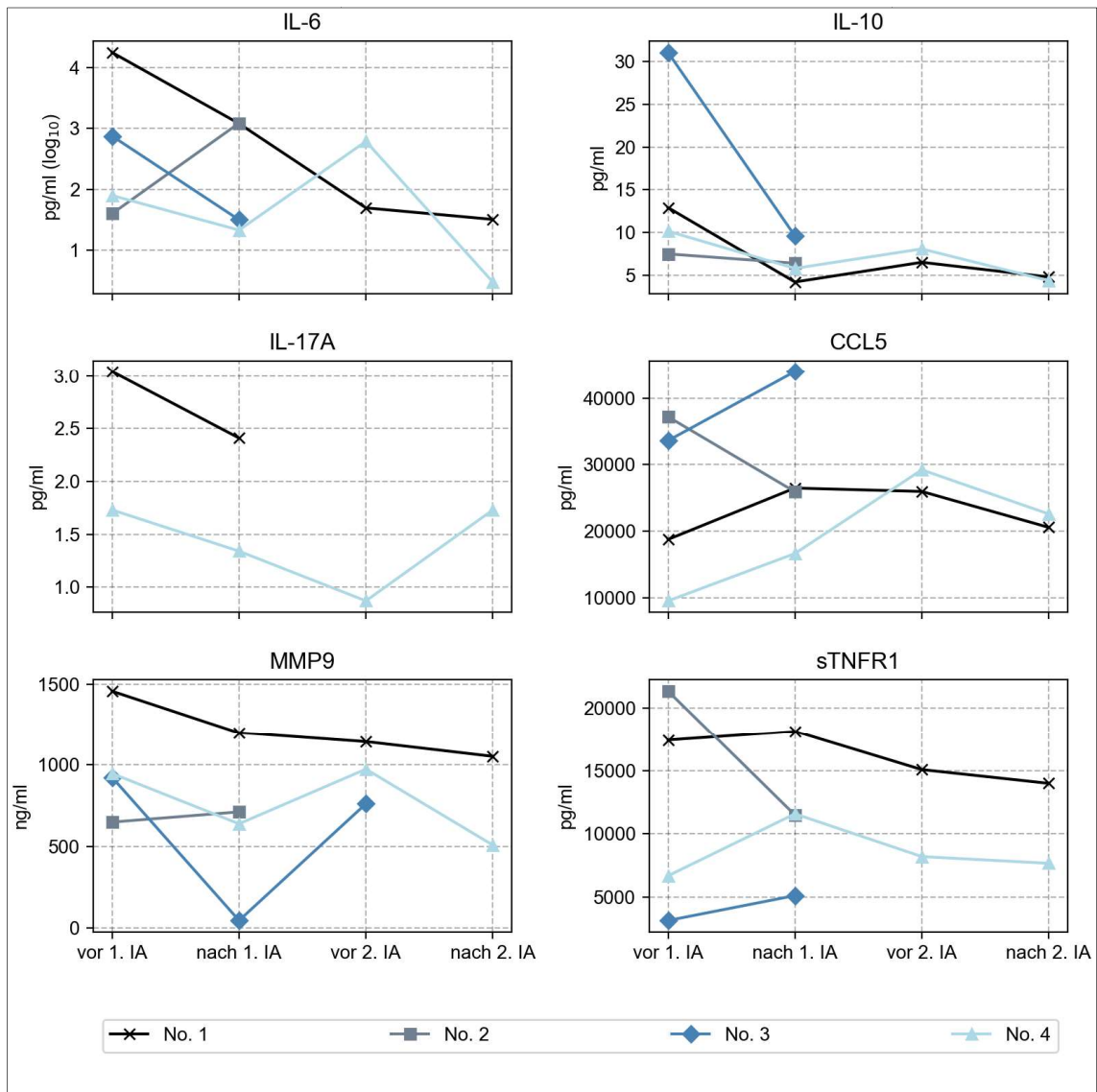
Der Median lag vor den Sitzungen bei 27603,85 pg/ml (9525,79; 37203,36) und danach bei 24265,91 pg/ml (16647,40; 44023,77). Über den gesamten Verlauf kann dennoch eine Reduktion von 12,1 % ermittelt werden.

## **MMP9**

Anders stellte es sich hingegen bei der Ermittlung der MMP9-Werte dar. Bei drei von vier Patienten konnte nach der ersten Behandlung mittels Immunadsorption ein Konzentrationsabfall von MMP9 gemessen werden und bei den beiden Patienten mit zwei Zyklen war dieser Effekt auch nach der zweiten Behandlung nachzuweisen. Die Konzentration sank um 23,2 %. Der Median lag vor der Immunadsorption bei 960,51 ng/ml (649,60; 1457,87) und nach der Immunadsorption bei 737,16 ng/ml (509,14; 1199,77).

## **sTNFR1**

Ähnlich wie es sich für die CCL5-Konzentrationen gezeigt hat, verhält es sich auch bei der Bestimmung von sTNFR1. Bei drei von vier Patienten kommt es nach der ersten Behandlung zu einem Anstieg, anstatt zu einem Abfall. Nach der zweiten Sitzung zeigten allerdings zwei Patienten einen Rückgang der Konzentrationen von sTNFR1 im Blut. Statistisch konnte ein Median von 11644,70 pg/ml (3164,05; 21352,23) für vor den Immunadsorptionen bestimmt werden. Trotz der Anstiege bei drei Patienten lag der Median nach der Immunadsorption bei 11538,09 pg/ml (5128,84; 18130,91). Insgesamt kam es nur zu einem Abfall von 0,9 % der Serumkonzentration.



**Abb. 4.12:** Darstellung der Einzelverläufe der Serumkonzentrationen von IL-6, IL-10, IL-17A, CCL5, MMP9 und sTNFR1 unter der Behandlung mit Immunadsorption.

**Tab. 4.10: Effekt der Immunadsorption auf die Serumkonzentrationen der pro- und antiinflammatorischen Zytokine**

	vor Immunadsorption	nach Immunadsorption	Prozent
<b>IL-6 [pg/ml]</b> Median (range)	346,92 (40,18; 17610,71)	31,97 (3,03; 1223,87)	↓ 90,8 %
<b>IL-10 [pg/ml]</b> Median (range)	9,14 (6,54; 31,03)	5,33 (4,24; 9,62)	↓ 41,7 %
<b>IL-17A [pg/ml]</b> Median (range)	2,39 (1,73; 3,04)	1,88 (1,34; 2,41)	↓ 21,3 %
<b>CCL5 [pg/ml]</b> Median (range)	27603,85 (9525,79; 37203,36)	24265,91 (16647,40; 44023,77)	↓ 12,1 %
<b>MMP9 [ng/ml]</b> Median (range)	960,51 (649,60; 1457,87)	737,16 (509,14; 1199,77)	↓ 23,2 %
<b>sTNFR [pg/ml]</b> Median (range)	11644,70 (3164,05; 21352,23)	11538,09 (5128,84; 18130,91)	↓ 0,9 %

Angabe von Median (range) und die prozentuale Veränderung, welche durch die Immunadsorption erreicht wurde.

#### 4.5.3. Vergleich der Ergebnisse von Plasmapherese und Immunadsorption

Stellt man die prozentualen Veränderungen, welche durch die jeweilige Therapie herbeigeführt wurden, gegenüber (Tab. 4.12), so erkennt man, dass bei dem Verfahren mittels Immunadsorption bei allen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen es zu einer Reduktion in der Gesamtbetrachtung kam. Dabei war der stärkste Effekt bei IL-6 zu verzeichnen. Dem gegenüber stehen die prozentuale Zunahmen von IL-10, MMP9 und CCL5/Human Rantes während der Behandlung mittels Plasmapherese. Die stärkste Reduktion mittels Plasmapherese wurde bei sTNFR1 erreicht und war auch wesentlich effektiver als durch die Immunadsorption für diesen Parameter. Dies sind allerdings nur Tendenzen, da es sich um geringe Fallzahlen handelt und die Patienten nicht im selben Setting/Krankenhaus behandelt wurden.

**Tab. 4.12: Gegenüberstellung der prozentualen Reduktion durch Plasmapherese im Vergleich zur Immunadsorption**

	Plasmapherese	Immunadsorption
IL-6	↓ 14,6 %	↓ 90,8 %
IL-10	↑ 36,3 %	↓ 41,7 %
IL-17A	-	↓ 21,3 %
CCL5/Human Rantes	↑ 1,8 %	↓ 12,1 %
MMP9	↑ 42,6 %	↓ 23,2 %
sTNFR1	↓ 58,4 %	↓ 0,9 %

#### 4.6. Zusammenfassung der Follow-up-Untersuchungen

Um die neurologischen und nephrologischen Langzeitschäden beurteilen zu können, haben wir alle sechs an der Univeritätsmedizin Greifswald behandelten Patienten nach 30 Monaten zur Follow-up-Untersuchung eingeladen, sich erneut untersuchen zu lassen. Fünf Greifswalder Patienten, die bis auf eine Patientin 2011 mit Immunadsorption behandelt worden waren, folgten der Einladung und nahmen an der Follow-up-Untersuchung teil.

Es wurden neurologische, neuropsychologische und internistisch-klinische sowie laborchemische Untersuchungen, eine Sonografie der Nieren und eine Kernspintomografie des Kopfes durchgeführt.

Alle Patienten zeigten sich in einem guten Allgemein- und Ernährungszustand mit vollständiger Wiedererlangung der Alltagsfähigkeiten und Wiedereingliederung ins Arbeitsleben, soweit dies altersbedingt möglich war.

Alle Untersuchungsergebnisse werden in der Tab. 4.13 auf den folgenden Seiten zusammengefasst.

**Tab. 4.13 Zusammenfassung der Follow-up-Untersuchungen**

	<b>Patient No. 1 weiblich, 65 Jahre</b>	<b>Patient No. 2 weiblich, 44 Jahre</b>	<b>Patient No. 3 männlich, 61 Jahre</b>	<b>Patient No. 4 weiblich, 41 Jahre</b>	<b>Patient No. 6 weiblich, 79 Jahre</b>
<b>Aktuelle Anamnese</b>	subjektives Wohlbefinden erreicht	subjektives Wohlbefinden erreicht	Wohlbefinden zu 95 % erreicht	wieder berufstätig	subjektives Wohlbefinden erreicht, bis auf Schwierigkeiten beim Treppensteigen und schnellem Laufen
<b>Internistische Untersuchung</b>	keine Symptomatik	keine Symptomatik	schon zuvor bestehende arterielle Hypertonie; unter Ramipril gut eingestellt	abends ab und an Ödeme	seit 05/2011 besteht eine Schwindelsymptomatik, sowie Schlafstörungen
RR (mmHg)	125/80	120/80	140/80	110/75	140/80
HF/Min.	80	96	56	68	68
<b>Aktuelle Medikation</b>	Estradiol Citalopram 20 mg	keine Medikation	Ramipril 2,5mg	keine Medikation	ASS 100 mg Ezetimib 10 mg Simvastatin 20 mg Bisoprolol 5 mg Valsartan 160 mg Cinnarizin/Dimenhydrinat (seit 05/2011) Pantoprazol 40 mg Venlafaxin 75 mg Torasemid 10 mg
<b>Labor (10-11/2013)</b>					
Hb (mmol/l)	8,4	7,9	9,1	8,6	8,9
PLT (Gpt/l)	320	183	169	269	252
INR	1	1	1	1	1
Natrium (mmol/l)	139	142	144	141	143
Kalium im (mmol/l)	3,9	3,9	3,5	4	4,1
Calcium (mmol/l)	2,18	2,21	2,25	2,26	2,38
Kreatinin (µmol/l)	66	82	87	78	73
eGFR (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	82,2	69,6	82,6	75,3	70,9
LDH (µkatal/l)	2,63	3,31	3,2	3,09	3,42
Urin	Proteinurie: 75,4 mg/g Kreatinin keine Mikrohämaturie	Proteinurie: U-Protein < 50 mg/l keine Mikrohämaturie	Proteinurie: 104,1 mg/g Kreatinin Mikrohämaturie:	Urin-pH: 8 Proteinurie: 179,2 mg/g Kreatinin	Proteinurie: 199,5 mg/g Kreatinin keine Mikrohämaturie



			Erys/Blut: 5-20/µl	keine Mikrohämaturie	
<b>Neurologie</b>					
Gedächtnisstörungen	keine Symptomatik	retrograde Amnesie für 1,5 Jahre vor der Erkrankung	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik
Sensibilität	an der unteren Extremität eingeschränkt, vermindertes Vibrationsempfinden (li 3/8 und re 4/8)	keine Symptomatik	Parästhesien im lateralen Bereich der Zehen II und III, Vibrationsstörung an den Füßen	keine Symptomatik	geringe periphere Polyneuropathie (Vibrationsempfinden am rechten Knöchel 4/8 und links 3/8)
Paresen	keine Symptomatik	keine Symptomatik	linke Schulter: Parese der Außenrotation (KG 4)	keine Symptomatik	keine Symptomatik
Reflexe	kein pathologischer Befund	kein pathologischer Befund	kein pathologischer Befund	kein pathologischer Befund	ASR erloschen
Lagesinn	leicht eingeschränkt	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik	an der Großzehe deutlich herabgesetzt
Geruchsstörungen	keine Symptomatik	keine Symptomatik	in der neurologischen Untersuchung alle Gerüche prompt erkannt; anamnestisch veränderte Geruchswahrnehmung	keine Symptomatik	keine Symptomatik
Geschmacksstörungen	keine Symptomatik	keine Symptomatik	für sauer und bitter	erkennt keine schlechten Lebensmittel (anamnestisch)	keine Symptomatik
Sehstörungen	keine Symptomatik	keine Symptomatik	- gering sakkadierte Blickfolge - Oszillopsien beim Blick nach links lateral	keine Symptomatik	keine Symptomatik
epileptische Anfälle	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik
Alpträume	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik	keine Symptomatik	intermittierend
<b>MRT</b>	- konstante Darstellung der T2-Läsionslast im Bereich beider Hemisphären, kein Anhalt für neu aufgetretene Läsionen - unveränderte Darstellung der bekannten Stammganglienblutung links mit leicht regredientem	- altersentsprechendes, unauffälliges MRT des Neurokraniums - keine Befundänderung zur Voruntersuchung	- altersentsprechendes, unauffälliges MRT des Neurokraniums - keine Befundänderung zur Voruntersuchung	- konstante Darstellung der am ehesten unspezifischen Marklagerläsionen bds. frontal (links>rechts) - kein Nachweis von Hämosiderinablagerungen - keine Zunahme der Atrophie	- konstante Darstellung der Marklagerläsionen in beiden Hemisphären - deutliche Zunahme der Signalalteration in den Stammganglien bds.

	Umgebungsödem				
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- rechts parietale Siderose</li> <li>- unveränderte Darstellung der venösen Blutleiter</li> </ul>				
<b>Nierensonografie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rindenparenchym bds. echonormal</li> <li>- Markparenchym bds. echoarm</li> <li>- RI rechts: 0,57</li> <li>- RI links: 0,63</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rindenparenchym bds. echonormal</li> <li>- Markparenchym bds. echoarm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rindenparenchym bds. echonormal</li> <li>- Markparenchym bds. echoarm</li> <li>- RI rechts: 0,71</li> <li>- RI links: 0,71</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rindenparenchym bds. echonormal</li> <li>- Markparenchym bds. echoarm</li> <li>- RI rechts: 0,61</li> <li>- RI links: 0,59</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rindenparenchym bds. echonormal</li> <li>- Markparenchym bds. echoarm</li> <li>- links zeigt sich eine kortikale Zyste von 0,8 cm</li> <li>- RI rechts: 0,73</li> <li>- RI links: 0,73</li> </ul>
<b>Neuropsychologische Diagnostik</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- im Vergleich zur Voruntersuchung Leistungszuwachs bzw. -konstanz (Tab. 4.14)</li> <li>- ein Gros der Parameter lag im guten bis weit überdurchschnittlichen Bereich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- keine Hinweise auf kognitive oder affektive Störungen (Tab. 4.15)</li> <li>- Leistungen aller Testdomänen im guten Bereich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- keine Hinweise auf kognitive oder affektive Störungen (Tab. 4.16)</li> <li>- überdurchschnittlich gute Werte in den Bereich der figuralen Wiedererkennungsleistung sowie der visuo-motorischen Fähigkeiten</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- im Vergleich zur Voruntersuchung Leistungszuwachs bzw. -konstanz (Tab. 4.17)</li> <li>- ein Gros der Parameter lag im guten bis weit überdurchschnittlichen Bereich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- altersentsprechende Leistungen im Bereich der einfachen und selektiven Reaktionsfähigkeit und des allg., verbalen kognitiven Leistungsniveaus sowie der verbalen Wiedererkennungsleistung</li> <li>- im Vergleich zur Altersnorm herabgesetzte divergente Denkleistung, visuo-motorisches Tempo und kognitive Flexibilität</li> <li>- hohe Anzahl falsch positiver Reaktionen bei der Testung der figuralen Reaktionsfähigkeit (Tab. 4.18)</li> </ul>

*Patient No. 6 ist nicht mit Immunadsorption behandelt worden.*

*Die Untersuchungen sind im Oktober und November 2013 an der Universitätsmedizin Greifswald durchgeführt und die Befunde erhoben wurden.*

*RR = Blutdruckmessung nach Riva Rocci in Angabe mmHg, HF = Herzfrequenz pro Minute, Hb = Hämoglobin, PLT = Thrombozyten, INR = International Normalized Ratio, RI = intrarenaler Resistive Index.*

#### **4.6.1. Kernspintomografie**

Die MRT-Untersuchungen ergaben keinen Anhalt für eine spezifische Veränderung im Rahmen der EHEC-Erkrankung weder im Jahr 2011 noch bei der Follow-up-Untersuchung im Oktober 2013. Bei zwei Patienten lag ein unauffälliger, altersentsprechender Untersuchungsbefund vor. Bei zwei weiteren Patienten konnten Marklagerläsionen festgestellt werden, die allerdings als unspezifisch gewertet wurden und nicht eindeutig der EHEC-Infektion zugeordnet werden konnten. Des Weiteren wurde bei einer Patientin eine kleine Stammganglienblutung mit einem regredienten Umgebungsödem nachgewiesen, welche sich bereits bei der Erstuntersuchung zeigte und im Vergleich dazu unverändert war.

#### **4.6.2. Nierensonografie**

Es wurde bei der Ultraschalluntersuchung der Nieren vor allem auf Größe, Kontur, Parenchym, Lage und Atemverschieblichkeit geachtet. Außerdem erfolgte eine Bestimmung des intrarenalen Widerstandsindex (RI). Die ermittelten RI-Werte lagen bei zwei von fünf Patienten im Normbereich und bei zwei der fünf Patienten leicht oberhalb des Normwertes. Von einer Patientin wurde der RI-Wert nicht erfasst. Sonografisch konnte für das Nierenparenchym keine veränderte Echogenität dokumentiert werden. Bis auf eine Patientin, die eine Zyste von 0,8 cm im Kortex aufwies, zeigten sich keine weiteren Zysten, solide Raumforderungen, Konkremente oder Dilatationen des Nierenbeckenkelchsystems.

#### **4.6.3. Neurologische Untersuchung**

Bei allen Patienten wurde ein neurologischer Status erhoben. An der distalen, unteren Extremität zeigte sich bei drei Patienten ein eingeschränktes Vibrationsempfinden. Zusätzlich präsentierte sich bei einem Patienten auch eine verminderte Spitz-Stumpf-Diskrimination an der unteren Extremität und bei einer anderen Patientin ein beidseits erloschener Achilles-Sehnen-Reflex. Die periphere Polyneuropathie kann als Folge der langen intensivmedizinischen Therapie im Sinne einer CIP/CIM (critical illness polyneuropathy/ critical illness myopathy) angesehen werden.

Bei einem Patienten konnte eine gering sakkadierte Blickfolge und Oszillopsien beim Blick nach links lateral festgestellt werden. Eine Geruchsstörung wurde anamnestisch nur bei einem Patienten und Geschmacksstörungen bei zwei

Patienten in der neurologischen Untersuchung festgestellt. Der sonstige Hirnnervenstatus war bei allen Patienten regelrecht.

Eine Patientin berichtete zum Zeitpunkt der Follow-up-Untersuchung über intermittierende Albträume. Eine weitere Patientin wies eine retrograde Amnesie von 1,5 Jahren vor dem Erkrankungszeitpunkt auf. Alle fünf Patienten haben für die Zeit der Erkrankung teils nur unscharfe Erinnerungen.

Bei einem von fünf Patienten bestand eine eingeschränkte Schulterbeweglichkeit in Form einer Außenrotationsparese und einem Kraftgrad von 4, welche seit der Erkrankung bestand. Eine weitere Patientin gab eine gewisse Gangunsicherheit an. Sie zeigte auch einen langsameren Genesungsverlauf sowie zwischenzeitlich auftretenden Schwindel, der auch aktuell medikamentös behandelt wird.

#### **4.6.4. Internistische Untersuchung**

Bei der internistisch-klinischen Untersuchung ergaben sich vor allem im Hinblick auf die Nierenfunktion Auffälligkeiten. Bei drei Patienten wurde eine Proteinurie in der Laboruntersuchung festgestellt [12]. Die Proteinurie lag bei 75,4 mg/g Kreatinin bzw. 199,5 mg/g Kreatinin. Von einer Patientin konnte die Proteinurie nicht ermittelt werden. Zusätzlich wurde bei einem der Patienten mit Proteinurie auch eine Mikrohämaturie mit 5 - 20 Erythrozyten/ $\mu$ l festgestellt. Aufgrund fehlender Vorbefunde, können wir nicht sagen, ob dies als Folge des hämolytisch-urämischen Syndroms anzusehen ist. Eine weitere Patientin wies einen diskret erhöhten Serum-Kreatininwert von 82  $\mu$ mol/l (Referenzbereich 42 - 80  $\mu$ mol/l) auf. Dies entspricht einer eGFR von 69,6 ml/min/1,73m<sup>2</sup> und könnte als Folge der EHEC-HUS-Erkrankung gewertet werden. Die Patienten befinden sich in Kontrolluntersuchungen. Nach Durchsicht entsprechender Befunde von Patienten, die uns freundlicherweise von den ambulant behandelnden Nephrologen und Allgemeinmedizinern zur Verfügung gestellt wurden, konnten wir bei diesen Patienten eine Zunahme der eGFR verzeichnen bzw. lässt sich seit ca. drei Monaten nach der Erkrankung eine Stabilisierung feststellen. Dennoch bedeutet es aber gleichermaßen, dass nach der Stadieneinteilung der chronischen Nierenerkrankung bei den Patienten No. 1 und No. 2 ein Stadium CKD-G2 und bei den Patienten No. 3, No. 4 und No. 6 unter Berücksichtigung der Proteinurie das Stadium CKD-G2A2 vorliegt. Zu Patientin No. 2 muss allerdings gesagt werden, dass in den Befunden vom ambulanten Nephrologen

teils auch Normwerte zu verzeichnen waren und dies ein grenzwertiger Befund zu sein scheint.

#### **4.6.5. Neuropsychologische Untersuchung**

Untersucht wurden vor allem kognitive Leistungen. Im Vergleich zur Voruntersuchung konnte bei allen Patienten eine Befundkonstanz bzw. eine Leistungssteigerung festgestellt werden. Eine leichte kognitive Störung zeigte sich nur bei einer Patientin, die auch eine affektive Störung in Form von Angst seit der EHEC-Erkrankung aufwies. Dieses kognitive Defizit und auch die Angstzustände können sowohl Folge der Erkrankung als auch des langen ITS-Aufenthaltes sein. Die einzelnen Testergebnisse sind in tabellarischer Form im Anhang aufgelistet (Tab. 4.14-4.18).

### **4.7. Exemplarische Fallbeispiele**

#### **4.7.1. Fallbeispiel 1 = Patient No. 3**

Während seines Urlaubes auf der Insel Usedom hat der 59-jährige Patient Sprossen gegessen und klagte über blutige Diarrhöen. Initial wurde er im Krankenhaus Wolgast behandelt. Im Verlauf entwickelte der Patient eine Thrombozytopenie. Eine Verlegung in die Universitätsmedizin Greifswald wurde notwendig, da es zum Anstieg der Retentionsparameter kam und auch die Hämolyseparameter positiv waren. In der Universitätsklinik gelang der Nachweis von EHEC und des Shiga-Toxins. Während des stationären Aufenthaltes erfolgte zunächst, wie von der DGfN in einem Positionspapier empfohlen, die Durchführung von Plasmapheresen gegen Frischplasma und als weiterer Therapieversuch die Gabe von Eculizumab unter antibiotischer Abschirmung. Im weiteren Verlauf verschlechterte sich der neurologische Status des Patienten. Er wies einen grobschlägigen Tremor, Gedächtnisstörungen und einen generalisierten Krampfanfall auf. Ein Insult, eine Blutung sowie ein Hirnödem als Ursache des Krampfanfalls in einer notfallmäßig durchgeführten cCT konnten ausgeschlossen werden. Zur weiteren Überwachung und Behandlung des Patienten erfolgte die Verlegung auf die internistische Intensivstation. Bei fehlendem Erfolg wurde dort die Gabe von Eculizumab beendet. Bei nur geringfügig angestiegenen Retentionsparametern und erhaltener Diurese verzichteten die Kollegen auf eine Dialyse. Der Patient wurde am Folgetag zunehmend psychisch auffällig. Er war unruhig, halluzinierte und es trat ein erneuter Grand-Mal-Anfall auf. Aus diesem Grund wurde eine Therapie mit Phenytoin

begonnen. Hierunter sistierten die Anfälle. Es konnte ein Herdbefund links im EEG festgestellt werden, allerdings ohne pathologisches Korrelat in der cCT. Im Rahmen des agitierten Delirs und der notwendigen leichten Sedierung wurde der Patient ateminsuffizient, sodass eine Intubation und maschinelle Beatmung am 30.05.2011 eingeleitet werden musste. Trotz Plasmapherese erholte sich die Anzahl der Thrombozyten nicht. Die Hämolyse war nur gering ausgeprägt. Es erfolgte die Vollantikoagulation mit Heparin. Unter den genannten Maßnahmen konnte keine Verbesserung der schweren neurologischen Symptomatik verzeichnet werden. Als Rescue-Maßnahme wurde deshalb im weiteren Verlauf eine Immunadsorption durchgeführt.

Bei dem Versuch die Sedierung zu reduzieren, kam es wiederholt zu starken Unruhezuständen mit ausgeprägten Blutdruckanstiegen, Gegenpressen und insuffizientem Hustenstoß mit Sekretverhalt. Bei prolongiertem Weaning, wurde am 12.06.2011 eine dilatative Tracheotomie durchgeführt. Hiernach konnte schrittweise die Sedierung reduziert werden. Im Verlauf kam es auch zu einer Besserung der Vigilanz. Problematisch war weiterhin die exzessive Produktion von Sekret bei nicht suffizientem Hustenreiz, Würgereiz und Erbrechen. Damit verbunden waren intermittierende Aspirationen. Es erfolgte die Anlage einer Jejunalsonde, die Magensonde war auf kontinuierlichen Ablauf gestellt, sodass eine subglottische Absaugung möglich war. Darunter kam es zu einer Verbesserung der respiratorischen Funktion. Die Dekanülierung fand am 04.07.2011 statt. Es zeigten sich noch restliche Pleuraergüsse basal bei noch minimal eingeschränktem Gasaustausch. Echokardiografisch bestand ein Perikardergusssaum, ohne dass im EKG relevante Veränderungen festzustellen waren.

Am 06.07.2011 erhielt der Patient eine Meningokokkenimpfung bei zwischenzeitlich durchgeführter Eculizumabtherapie.

In der Stuhlkultur vom 16.06.2011 konnte kein EHEC mehr nachgewiesen werden.

Die neurologische Rehabilitationsbehandlung zur stationären Frührehabilitation begann ab dem 07.07.2011 in dem neurologischen Rehabilitationszentrum Greifswald. Bei Aufnahme des Patienten konnten noch deutlich neurologische Defizite festgestellt werden. Die Untersuchung der Hirnnerven ergab als Auffälligkeit eine sakkadierte Blickfolge bei intakter Bulbusmotilität und ein

Blickrichtungsnystagmus nach rechts. Ansonsten war der übrige Hirnnervenstatus unauffällig.

Bei Überprüfung der Motorik bestand eine linksseitige schmerzhafte Bewegungseinschränkung der Schulter bei der Abduktion (KG 2 nach Janda), Außenrotation (KG 2 nach Janda), Innenrotation (KG 4 - 5 nach Janda) und Flexion und Extension (KG 2 nach Janda). Die Überprüfung der restlichen Gelenke ergab ein KG 4 - 5 nach Janda. Es zeigte sich an der linken Schulter außerdem eine verminderte Trophik der Mm. deltoideus, supra- und infraspinatus im Vergleich zur Gegenseite. Der Deltoideus-Reflex war linksseitig abgeschwächt. Die Muskeleigenreflexe waren an der oberen Extremität übermittelbar auslösbar und es konnte beidseits ein positiver Trömner-Reflex festgestellt werden.

Des Weiteren ergaben die Koordinationsprüfungen eine extreme Stand- und Gangataxie. Gehen war nur mit zwei Hilfspersonen möglich. Zusätzlich zeigten sich ein feinschlägiger beidseits bestehender Haltetremor und eine diskrete Dysmetrie bei Extremitätenbewegungen.

Im Bereich der Sensibilität konnte eine leichte Reduzierung des Vibrationsempfindens und des Lagesinns eruiert werden. Außerdem bestanden Parästhesien am Dig. I rechts und an beiden Füßen.

Die neuropsychologische Untersuchung ergab leichte kognitive Funktionsstörungen ohne Anhalt für inhaltliche oder formale Denkstörungen. Die kognitiven Defizite lagen dabei vor allem im Bereich von Aufmerksamkeit und Konzentration. Nach vierwöchiger Behandlung im neurologischen Rehabilitationszentrum konnte der Patient in einem guten Allgemeinzustand entlassen werden. Es wurde die volle Selbstständigkeit und Mobilität wieder erreicht. Die beschriebenen Parästhesien an den Füßen sowie an Dig. I waren rückläufig. Im Bereich der kognitiven Fähigkeiten konnten deutliche Verbesserungen verzeichnet werden. Bestehen blieb eine minimale Kraftminderung des linken Arms proximal (KG 4) und ein leichter feinschlägiger Haltetremor, mit deutlicher Besserung zum Anfangsbefund. Als weiteres leichtes Residuum blieb die Stand- und Gangataxie mit leichtem unsystematischem Schwanken und Unsicherheiten beim Blindstrichgang und Unterberger-Tretversuch. Ab Oktober 2011 war auch eine stufenweise Wiedereingliederung in das Arbeitsleben möglich.

Bei der Nachuntersuchung 30 Monate später berichtete der Patient, dass er zu 95 % sein Wohlbefinden und Leistungsvermögen wieder erreicht habe. Er sei schneller erschöpft als früher. Subjektiv habe er das Gefühl, dass er oft Wörter verwechsle und sich sein Geruchssinn verschlechtert habe. Der linke Arm sei wieder frei beweglich, aber nicht belastbar. Die Parästhesien an seinen Füßen bestünden weiterhin und es dauere ein paar Schritte, um seiner Füße gewahr zu werden.

In den einzelnen Untersuchungen konnten die anamnestisch beschriebenen Probleme teils bestätigt werden. So ergab die neurologische Untersuchung keine Defizite bei der Geruchsprüfung, aber bei der Geschmacksprüfung ein erschwertes Erkennen von sauer und bitter. Die bereits in der neurologischen Rehabilitation aufgefallene sakkadierte Blickfolge konnte auch in dieser Untersuchung festgestellt werden. Beim Blick nach links zeigten sich Oszillopsien. Alle übrigen Hirnnerven wiesen keinen pathologischen Befund auf. Die Testung der Motorik ergab keine latenten Paresen bei Arm- und Beinvorhalteversuch, allerdings zeigte sich in der Einzelkraftprüfung die fortbestehende Parese der linken Schulter in der Außenrotation (KG 4 nach Janda). Ansonsten bestand allseits KG 5 nach Janda. Des Weiteren ist eine Sensibilitätsminderung an den Malleoli mediales festzustellen, die als eine Folge der critical illness polyneuropathie gewertet werden kann. In der neuropsychologischen Untersuchung konnte ein normaler altersgerechter kognitiver Befund erhoben werden.

Laborchemisch fiel eine Proteinurie von 104,1 mg/g Kreatinin und Erythrozyturie mit 5 - 20 Erythrozyten/ $\mu$ l Blut bei normalem sonografischen Befund der Nieren auf. Die zuletzt gemessenen eGFR betrug 82,6 ml/min/1,73m<sup>2</sup>.

#### **4.7.2. Fallbeispiel 2 = Patient No. 2**

Am 22.05.2011 wurde die 42-jährige Patientin aufgrund blutiger Durchfälle und steigender Retentionsparameter unter dem Verdacht auf eine EHEC-Infektion in die Universitätsmedizin Greifswald eingewiesen. Neben den erhöhten Retentionsparametern zeigte sich eine Coombs-negative Hämolyse mit Nachweis von Fragmentozyten im Sinne eines EHEC-HUS. Da bereits Erfahrungen vorlagen, wurde zunächst eine Therapie mit dem Antikörper Eculizumab unter antibiotischer Abschirmung gegen Meningokokken begonnen. Die Patientin musste am 28.05.2011 auf die internistische Intensivstation verlegt werden, nachdem sie mehrere generalisierte Krampfanfälle geboten hatte. In der durchgeführten cCT konnten eine



Blutung, ein Insult oder ein Hirnödem als Ursache ausgeschlossen werden. Die Krampfanfälle wurden als neurologisches Symptom des hämolytisch-urämischen Syndroms gewertet. Bei bis zu diesem Zeitpunkt ausbleibendem Erfolg der Therapie mit Eculizumab wurde diese beendet und die therapeutische Plasmapheresebehandlung begonnen. Bei weiter steigenden Retentionsparametern (Serumkreatinin von bis zu 495,9 µmol/l) sowie einer Anurie entschloss man sich eine Dialysebehandlung einzuleiten. Die Patientin bot erneut einen Krampfanfall, sodass eine Therapie mit Phenytoin notwendig wurde. Bei einem weiteren Grand-Mal-Anfall kam es zum Erbrechen und Aspiration, woraufhin die Patientin intubiert und bronchoskopiert wurde. Auch unter Phenytoin traten am Folgetag fokale Krampfanfälle auf. Im EEG zeigte sich ein Status epilepticus. Zur Sedierung mit Propofol und Sufentanil wurde noch Midazolam hinzugegeben und Phenytoin in einen hochnormalen Bereich aufgesättigt. Das am 30.05.2011 durchgeführte Kontroll-EEG konnte kein Status epilepticus mehr nachweisen. Es bestanden schwere Allgemeinveränderungen im Burst-Suppression-Muster und Delta-Wellen. Am 03.06.2011 wurde eine weitere Kontrolle des EEGs durchgeführt und die Allgemeinveränderung als mittelschwer eingeschätzt. Zeichen für eine erhöhte Anfallsbereitschaft oder ein Herdbefund zeigten sich nicht. Das MRT erbrachte keinen pathologischen Befund. Die täglich laufende Plasmapherese blieb ohne Auswirkung auf den Verlauf. Es konnte zunächst kein Anstieg der Thrombozyten verzeichnet werden. Die minimale Thrombozytenkonzentration der Patientin lag bei 18 Gpt/l. Die Hämolyse war stark ausgeprägt. So zeigte sich laborchemisch ein minimaler Hämoglobinwert von 4,5 mmol/l und eine maximale LDH-Konzentration von 26,4 µkat/l. Es bestand außerdem eine Hämaturie und im Blut wurden 13 ‰ Fragmentozyten nachgewiesen. Bis zum 01.06.2011 wurde die Plasmapherese fortgeführt, dann entschloss man sich, das Therapieschema zu ändern und mit der Immunadsorption fortzufahren. Die ersten Sitzungen fanden am 02. und 03. Juni 2011 statt. Hierunter konnte überraschenderweise bald eine Stabilisierung der schweren neurologischen Symptomatik festgestellt werden. Es traten zunächst keine Myoklonien und Krampfanfälle mehr auf. Im weiteren Verlauf konnte die Patientin rasch vom Respirator entwöhnt und am 06.06.2011 extubiert werden. Zwei Tage später kam es erneut zu einem Krampfanfall. Die Patientin wurde vorsorglich schutzintubiert. Nach Anpassung der antikonvulsiven Therapie, wurden keine weiteren Krampfgeschehnisse mehr beobachtet. Die komplikationslose Extubation

war am Folgetag möglich. Während des Aufenthalts auf der Intensivstation stellte man die intermittierende Dialysebehandlung auf ein kontinuierliches Nierenersatzverfahren (CVVH) um, da der notwendige Volumenentzug nicht gut vertragen wurde. Die Nierenfunktion erholte sich im weiteren Verlauf. Ab dem 17.06.2011 war keine Nierenersatztherapie mehr notwendig.

Seit dem 15.06.2011 kam es zu einer Verschlechterung des neurologischen Status. Parallel entwickelte die Patientin eine fiebrige Infektion ohne offensichtlichen Fokus unter der weiter laufenden Antibiose mit Imipenem. Nach Abfall der Entzündungsparameter wurde ein neuer Immunadsorptionszyklus am 17.06.2011 und 18.6.2011 durchgeführt. Bereits nach der ersten Sitzung verschwanden die neurologischen Symptome. Gleiches wiederholte sich ca. 10 Tage später am 28.06./29.06.2011. Nach Entfernung des Dialysekatheters und der sonografischen Kontrolle konnte eine Teilthrombose der Vena femoralis communis links festgestellt werden, sodass eine Vollantikoagulation notwendig war.

Die Verlegung in die BDH-Klinik Greifswald erfolgte am 01.07.2011. Hier sollte die neurologische Frührehabilitation stattfinden. Zu diesem Zeitpunkt war die Patientin noch sauerstoffpflichtig und litt unter Dyspnoe infolge ausgedehnter Pleuraergüsse, welche trotz Negativbilanzierung zunächst nicht rückläufig waren. Eine bereits während des Aufenthalts in der Universitätsmedizin Greifswald anhaltende Sinustachykardie bestand bereits vor der Erkrankung an EHEC-HUS, wie sich im Nachhinein herausstellte. Bei der Aufnahme präsentierte sich die Patientin in einem noch deutlich reduzierten Allgemein- und Ernährungszustand. Bei der Erhebung des neurologischen Status fiel vor allem eine Kraftminderung der proximalen unteren Extremität auf (KG 2 - 3). Die Reflexe waren an der oberen Extremität gesteigert und an der unteren Extremität mittellebhaft auslösbar. Pyramidenbahnzeichen zeigten sich hierbei nicht. Es bestanden Sensibilitätsstörungen im Sinne von Parästhesien und Taubheitsgefühlen an beiden Füßen. In der neuropsychologischen Untersuchung konnte eine retrograde Amnesie, die sich auf mehrere Jahre bezieht, festgestellt werden. Zudem bestanden Einschränkungen der Gedächtnisleistung. Am 26.08.2011, also acht Wochen später, konnte die Patientin aus der neurologischen Rehabilitationsklinik in gutem Allgemein- und Ernährungszustand entlassen werden. Die Patientin benötigte keinerlei Hilfestellung bei der Mobilisierung und hatte keine Bewegungseinschränkungen mehr. Eine deutliche Verbesserung konnte im Bereich der Feinmotorik erzielt werden. Die Kraftminderung der oberen Extremität war

deutlich rückläufig, aber auch nach acht Wochen noch minimal vorhanden. Die Leistungsfähigkeit war zu der Zeit noch nicht vollständig wieder vorhanden. Die Sensibilitätsstörungen waren regredient. Auch im neuropsychologischen Bereich waren die Defizite rückläufig, wobei nach wie vor eine retrograde Amnesie für 1,5 bis 2 Jahre bestand. Im Bereich von Aufmerksamkeit und Merkfähigkeit konnten enorme Fortschritte erzielt werden. Die Fahrtauglichkeit war zu diesem Zeitpunkt wieder gegeben. Die Patientin konnte wieder in den Arbeitsprozess integriert werden.

Zur Nachuntersuchung 30 Monate nach der EHEC-HUS-Erkrankung präsentierte sich eine vollends im Leben stehende Frau und berichtete, dass sie ihr Wohlbefinden wieder erreicht habe. Die Patientin war bis zu diesem Zeitpunkt in neurologischer Kontrolle und habe bis zum April 2012 eine antiepileptische Therapie bekommen. Krampfanfälle seien aber nur während der Zeit in der Universitätsmedizin Greifswald aufgetreten. Die Rehabilitation setzte sie bis Ende 2011 fort und war insgesamt acht Monate krankgeschrieben. An die Erkrankung sowie an das Jahr zuvor kann sich die Patientin nicht mehr erinnern.

In der internistischen Kontrolluntersuchung ergab sich eine erniedrigte eGFR von 69,9 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. Der Kreatininwert war mit 82 µmol/l leicht erhöht (Referenzbereich 42 - 80 µmol/l). Da das U-Protein unterhalb von 50 mg/l lag, konnte die Proteinurie bezogen auf mg Protein/g Kreatinin nicht exakt berechnet werden. Neuropsychologisch und auch neurologisch konnten keine Residuen festgestellt werden.

## 5. Diskussion

2011 wurde die Medizin von der EHEC-Epidemie überrascht. Für das sehr häufig auftretende EHEC-HUS gab es keine etablierten Therapien. Es wurde Plasmaaustausch gegen die Gabe von Frischplasma von der DGfN empfohlen, später Eculizumab. In Greifswald und Hannover wurde die Immunadsorption angewendet und erbrachte auch bei Patienten mit schweren Verläufen eine rasche Besserung. Dieses wegweisende Ergebnis wurde in *The Lancet* publiziert [22]. Fünf dieser Patienten haben wir nach 30 Monaten nachuntersucht und zwei Fallberichte in dieser Promotion exemplarisch dargestellt.

Die weitere Grundlage für die Promotionsarbeit stellt das EHEC-Register der DGfN dar. Anhand der Basisdaten wurde ein Studienkollektiv von 35 Patienten ausgewählt und ihre Blutproben hinsichtlich pro- und antiinflammatorischer Zytokine und Entzündungsmediatoren untersucht, auch im Hinblick des möglichen Therapieerfolgs der Immunadsorption gegenüber der Plasmapherese. Zudem wurden die Informationen aus dem EHEC-Register der 35 Patienten ausgewertet.

### **Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse:**

#### 1. DGfN-EHEC-Register:

- a. Es zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Patienten mit neurologischen Symptomen in Bezug auf die Anzahl von Thrombozyten (niedriger), der Serumkreatininkonzentration (höher) und der eGFR (niedriger), sowie auch signifikant häufiger das Auftreten einer Hämaturie. Dies unterstreicht den schweren Krankheitsverlauf bei Patienten mit neurologischer Symptomatik.
- b. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Seruminterleukine und -chemokine beim Vergleich der beiden Patientengruppen mit (27 Patienten) und ohne (8 Patienten) neurologische Symptome.
- c. Innerhalb der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen fanden sich stark positive Korrelation zwischen den Interleukinen IL-6, IL-10 und IL-17A und den Entzündungsmediatoren MMP9, CXCL8/IL-8, sTNFR1 und sE-Selectin, in der Gruppe ohne neurologische Symptome

hingegen nicht. Möglicherweise unterhalten die proinflammatorischen Zytokine den Entzündungsprozess und verursachen somit einen insgesamt schwereren Krankheitsverlauf.

- d. Immunadsorption und Plasmaaustausch sind unterschiedlich effektiv: Immunadsorption reduzierte IL-6 zu 91 %, sTNFR1 nur zu 0.9 %, während Plasmaaustausch IL-6 nur zu 14 %, sTNFR1 aber zu 58 % eliminierte.
2. Greifswalder Patientenkollektel: 30 Monate nach der EHEC-HUS-Erkrankung sind nur wenig neurologische Residuen vorhanden, die sich nicht eindeutig von einem CIP/CIM-Syndrom abgrenzen lassen. Die kognitiven Fähigkeiten sind nicht eingeschränkt. So besteht einmal eine Amnesie für die Erkrankungszeit. Geruchs- oder Geschmacksstörungen persistieren bei zwei von fünf Patienten. Des Weiteren bestehen bei einem Patienten weiterhin Sehstörungen sowie eine Parese im Bereich der linken Schulter seit der Erkrankung. Die Nierenfunktion ist bei allen fünf Patienten im Stadium CKD G2 eingeschränkt. Zusätzlich zeigen drei Patienten auch eine Proteinurie und zählen damit zum Stadium CKD-G2A2.

Die allgemeinen Daten der Patienten sind vergleichbar mit den Ergebnissen, die das RKI im Abschlussbericht zum EHEC-Ausbruch O104:H4 2011 veröffentlicht hat, als auch mit Berichten von anderen Kliniken, welche Patienten mit einer EHEC-Infektion und/oder HUS-Erkrankung behandelten [1], [20], [21].

Die Anzahl der Patienten mit neurologischer Symptomatik lag bei unserem Studienkollektiv bei 77,1 % und ist damit höher als im Vergleich zu Angaben über Raten von neurologischen Komplikationen von anderen Autoren. Bei ihnen lag der Höchstwert bei 56 % [19], [20], [38-41]. Hinzu kommt der ungewöhnlich hohe Anteil an erwachsenen Patienten mit neurologischen Komplikationen im Vergleich zu früheren Ausbrüchen. Dieser wiederum ist auch von anderen Autoren so beschrieben worden [1], [19-21].

Zu den schwerwiegendsten Komplikationen einer HUS-Erkrankung wird die neurologische Symptomatik gezählt [38], [39], [41], [43]. Auch während des Ausbruchs 2011 zeigten zahlreiche Patienten eine neurologische Symptomatik. Die in dieser Studie eingeschlossenen Patienten boten Kopfschmerzen, Sehstörungen, Dys-/Aphasien, Persönlichkeitsveränderungen, Verwirrheitszustände und epileptische Anfälle. Obwohl die epileptischen Anfälle zu den häufigsten

neurologischen Symptomen im Rahmen einer EHEC/HUS-Erkrankungen zählen, wiesen nur 17 % (6/27) der von uns untersuchten Patienten dieses Merkmal auf [38], [43]. Häufiger traten mit 47 % (17/27) Verwirrheitszustände und Persönlichkeitsveränderungen sowie Sprachstörungen mit 44 % (16/27) auf (siehe auch Tab. 4.3). Verglichen mit den Ergebnissen aus der Arbeit von Magnus et al. traten epileptische Anfälle hier innerhalb der ersten Krankheitswoche häufiger auf. Über die gesamte Zeit hinweg betrachtet kam es in 20 % der Fälle ähnlich oft zu epileptischen Anfällen. Kognitive Defizite oder Aphasien traten mit 67,3 % deutlich häufiger als bei unserem Studienkollektiv auf. Allerdings liegt eine Diskrepanz zwischen den Gruppenstärken vor, denn unser Studienkollektiv umfasst 27 Patienten mit neurologischen Symptomen und bei Magnus et al. lag die Anzahl bei 104 [19]. Uns war es auch nicht möglich, eine zeitliche Zuordnung der Symptome durchzuführen. Bei Betrachtung der Ergebnisse von Weissenborn, Donnerstag und Kielstein et al. zeigt sich in Bezug auf die epileptischen Anfälle ein ähnliches Ergebnis. Hierbei standen unter anderem Dysphasien neben kognitiven Defiziten im Vordergrund und lagen damit etwas höher als in unserer durchgeführten Studie [45].

Eine Ursache für den schweren Verlauf nach einer Infektion mit EHEC O104:H4, welche sehr häufig zu einem hämolytisch-urämischem Syndrom mit neurologischen Symptomen vor allem bei Erwachsenen geführt hat, könnten die Virulenzfaktoren sein, die sich von früheren Ausbruchstämmen zum Teil unterscheiden [9-11], [17], [42]. Bedingt dadurch, dass EHEC O104:H4 Charaktereigenschaften von EHEC als auch EAEC aufweist [3], [17], konnte im Vergleich zu anderen Serotypen die Möglichkeit der Bildung des Stx-2 nachgewiesen werden, welches für das aggressive Verhalten verantwortlich gemacht wird [70]. Außerdem wurden Virulenzfaktoren wie die Resistenzen gegenüber Antibiotika und die Ausbildung spezieller Fimbrien gefunden [10], [68], [69]. Das für EHEC typisch eae-Gen, das für Intimin codiert, fehlt allerdings [9], [59]. Diese Kombination der Virulenzfaktoren führt wahrscheinlich zu einer stärkeren Anheftung an das Darmepithel. Auch die äußerlichen Bedingungen wie Übertragungsart, Infektionsdosis, Vehikel und die allgemeine Anfälligkeit des Menschen könnten eine Rolle als Ursache für derart schwere Verläufe spielen [10].

## 5.1. Paraklinik

Bei Auswertung der Paraklinik konnten wir die Labordaten von im Schnitt 34 Patienten unseres Gesamtkollektivs auswerten. Aufgrund von fehlenden Angaben im EHEC-Register war dies nicht für alle Routinelaborparameter der 35 in unserer Studie eingeschlossenen Patienten möglich.

In dieser Studie konnten signifikant geringere Werte für die Anzahl der Thrombozyten bei den Patienten mit neurologischen Symptomen festgestellt werden, was in der Studie von Shiraishi et al. nicht gezeigt werden konnte [32]. Yamamoto et al. wiederum konnte ebenfalls einen signifikanten Unterschied nachweisen [138]. Für die gleiche Patientengruppe ergab sich eine Tendenz für die minimale Anzahl an Thrombozyten während des Krankheitsverlaufs. Für die Serumkreatininkonzentration ergaben sich signifikant höhere Konzentrationen in der Gruppe der Patienten mit den neurologischen Symptomen im Vergleich zu der Gruppe der Patienten ohne neurologische Symptome. Gleiches gilt für die maximale Serumkreatininkonzentration während des Krankheitsverlaufs. Auch dies konnten Shiraishi et al. nicht nachweisen, aber wiederum Yamamoto et al., Bale et al. und Sheth et al. [32], [38], [41], [138]. Aufgrund von fehlenden zeitlichen Angaben war es jedoch nicht möglich wie bei Magnus et al. einen zeitlichen Zusammenhang zwischen dem Auftreten der neurologischen Symptomatik und dem Anstieg der Kreatininkonzentration herzustellen [19]. Allerdings kann in Zusammenschau der Daten die Vermutung geäußert werden, dass höhere Kreatininkonzentrationen und neurologische Symptome für einen schweren Verlauf des hämolytisch-urämischen Syndroms sprechen. Genau wie in unserer Arbeit konnten auch Shiraishi und Kollegen für die LDH-Konzentration keinen signifikanten Unterschied ausmachen. Dies gelang allerdings Shimizu et al., welche erhöhte Werte bei den Patienten mit schwer ausgeprägtem HU-Syndrom fanden. Auch Yamamoto et al. konnte dies nachweisen [31], [138]. Diese teils ungleichen Resultate liegen möglicherweise an den verschiedenen Abnahmezeitpunkten der entsprechenden Blutproben und aber auch an den Kriterien der Gruppeneinteilung der Patienten, denn es wurde zwischen Patienten mit und ohne neurologischen Symptomen, Patienten mit HUS und hämorrhagischer Colitis (HC) oder gesunden Probanden verglichen (siehe auch Tab. 5.1).

Verglichen mit der Paraklinik des Patientenkollektivs von Dücker et al. konnten annähernde Werte für die Paraklinik festgestellt werden [20]. Auffällig ist, dass

bezüglich der Kreatininkonzentration die Werte noch mal deutlich höher in den Arbeiten von Bale et al. als auch von Sheth et al. ausfielen [38], [41]. Bei beiden Arbeiten sind dies die Auswertungen von an EHEC-HUS erkrankten Kindern.

## 5.2. Zytokine

Enterohämorrhagischer E. coli ist in der Lage das Shiga-Toxin zu produzieren und damit ein hämolytisch-urämisches Syndrom auszulösen. STx selbst ist wiederum in der Lage, die Sekretion von Zytokinen zu induzieren, wobei die genaue Wirkung der Zytokine und ihre Rolle in der Pathogenese des HUS auch 10 Jahre nach der Epidemie 2011 nicht vollständig geklärt ist. Zu den induzierten Zytokinen gehören unter anderem TNF $\alpha$ , IL-6, CXCL8/IL-8, CCL2/MCP-1 und noch einige mehr. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Serum-Spiegel der Zytokine und anderer Entzündungsmediatoren oder deren Gegenspieler als Indikatoren für die Krankheitsaktivität herangezogen werden könnten sowie als Prädiktoren für die neurologische Verschlechterung und das Fortschreiten eines akuten Nierenversagens. Ein wichtiger Baustein in der Pathogenese des HUS ist die Endothelzellverletzung. Diese kann unter anderem nach bisherigem Kenntnisstand durch TNF $\alpha$  ausgelöst werden. Durch den Einfluss des Shiga-Toxins und aufgrund der Entzündungsreaktion kommt es zur Bildung weiterer proinflammatorischer Zytokine sowie zu einer Leukozytenmigration. Diese wird durch Chemokine getriggert als auch durch das Adhäsionsmolekül sE-Selectin, was infolge der entstehenden Thrombosen und Mikrothromben vermehrt gebildet wird. Die Wirkung der Zytokine und des Shiga-Toxins wird weiter verstärkt durch die gesteigerte Expression des Gb3-Rezeptors [6]. Das Ziel dieser Arbeit war, der oben genannten Hypothese nachzugehen. Hierbei wurde geprüft, ob bei HUS-Patienten mit neurologischen Symptomen, unter der Annahme, dass ein durch Zytokine und andere Entzündungsmediatoren ausgelöster neuroinflammatorischer Prozess ursächlich bzw. mitwirkend an der Pathogenese des hämolytisch-urämischen Syndroms mit neurologischen Komplikationen ist. Allerdings konnten wir die Hypothese in unserer Studie für die Zytokine IL-6, IL-17A, IL-10, CXCL8/IL-8 und für weitere Chemokine, sowie für sE-Selektin, MMP9 und TIMP1 wie auch für sTNFR1 als Parameter für biologisch wirksames TNF $\alpha$  nicht bestätigen.

Bei keinem der gemessenen pro- und antiinflammatorischen Zytokine und Entzündungsmediatoren wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen



mit neurologischer Symptomatik und ohne neurologische Symptomatik festgestellt. Dies gelang wiederum anderen Autoren für einige Parameter.

Shiraishi et al. und van de Kar et al. konnten signifikant höhere Konzentrationen für IL-6 bei Patienten mit neurologischen Symptomen während einer EHEC-HUS-Erkrankung nachweisen. Zwei Besonderheiten gilt es aber hier zu erwähnen, denn zum einen handelte es sich um andere Serotypen und zum anderen stammten die Proben von Kindern [32], [137]. In der Studie von van de Kar et al. wurden außerdem Plasma- anstatt Serum-Proben verwendet. Die Konzentration, wie aus der Tab. 5.1 zu entnehmen, lag in der Plasmaprobe wesentlich höher als in den Serum-Proben [137]. Dies sind mögliche Gründe, weswegen wir keine erhöhte Konzentration für IL-6 ermitteln konnten. Auch Yamamoto et al. konnten in Serum-Proben signifikant höhere IL-6-Konzentrationen messen, wobei die Autoren einen Vergleich zwischen HUS-Patienten ohne Angabe zur neurologischen Symptomatik und Patienten mit hämorrhagischer Colitis durchführten [138]. Da in unserer Studie nur zwei Patienten aus der Gruppe ohne neurologische Symptomatik kein HUS aufwiesen, können die Studien nur bedingt miteinander verglichen werden. IL-6 hat in Abhängigkeit des Stadiums entzündungsfördernde als auch -hemmende Eigenschaften. In der akuten Phase wirkt IL-6 proinflammatorisch und in der subakuten Phase neuroprotektiv [140]. Die in dieser Studie verwendeten Blutproben wurden am Aufnahmetag in das Krankenhaus bzw. vor jeglichem Therapiebeginn abgenommen. Zu welchem Zeitpunkt der Erkrankung genau die Abnahme erfolgte, können wir mit letztendlicher Sicherheit nicht sagen. Das heißt, es könnte durchaus sein, dass IL-6 in unseren Proben deshalb nicht mit dem Unterschied nachweisbar war, wie wir es erwartet hatten. Bei Aufnahme hatten noch nicht alle Patienten die volle Symptomatik ausgebildet. Eventuell wären deutlichere Unterschiede noch im Verlauf aufgetreten. Van de Kar et al. berichtet außerdem, dass Zytokine eine kurze Halbwertszeit haben, was unser Ergebnis ebenfalls erklären könnte [137]. Dies wird durch die Arbeit von Eisenhauer et al. deutlich, wo die Zytokinkonzentrationen nach 48 Stunden wieder abfielen [35]. Es gilt festzuhalten, dass sowohl van de Kar et al., Shiraishi et al. und Inward et al. auch erhöhte IL-6-Konzentrationen bei Patienten mit neurologischen Symptomen in ihren Arbeiten gemessen haben, sodass es weitere Studien braucht, um die Rolle von IL-6 bei HUS mit neurologischen Komplikationen zu klären [32], [137], [139].

Für die Chemokine CCL2/MCP-1 und CXCL8/IL-8 wird aufgrund ihrer chemotaktischen Eigenschaften postuliert, dass sie vor allem an der Rekrutierung von mononukleären Zellen (MO) und polymorphkernigen Leukozyten (PMN) sowie an deren Aktivierung beteiligt sind und damit unter anderem an der Pathogenese von HUS. CXCL8/IL-8 könnte außerdem auch ein möglicher Verursacher entzündlicher Prozesse im gastrointestinalen System sein. Denn es wurde bei Patienten mit Morbus Crohn und Colitis ulcerosa nachgewiesen [141], [143]. Van Setten et al. konnte vor allem eine lokale Anreicherung von MOs und PMNs in renalem Biopsiegewebe von Patienten mit HUS nachweisen. In Bezug auf das Chemokin CXCL8/IL-8 konnten keine signifikant höheren Konzentrationen in der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen festgestellt werden, im Gegensatz zu Shimizu et al., Yamamoto et al., van Setten et al. und Fitzpatrick et al. [31], [138], [141], [142]. Auch hierbei handelte es sich um Blutproben von Kindern und nicht von Erwachsenen wie in unserer Studie und auch der Serotyp war mit E. coli O157 ein anderer. Somit kann angenommen werden, dass es eine Rolle spielt, ob Erwachsene oder Kinder betroffen sind und welcher Serotyp die Infektion auslöst.

Mit dem CBA-Flex-Kit haben wurde eine andere Messmethode als von den anderen drei Autoren gewählt.

Wie in der Tab. 5.1 ersichtlich, liegen die Mediane der verschiedenen Studien allerdings weit auseinander. Dies erklären wir uns dadurch, dass alle Proben zwar zu Beginn bzw. bei Aufnahme abgenommen wurden und wie von van Setten et al. beschrieben zu diesem Zeitpunkt die höchsten Konzentrationen zu messen sind. Allerdings war dies bei jeder einzelnen Probe ein anderer Zeitpunkt im Krankheitsverlauf [141]. Fitzpatrick et al. stellten außerdem fest, dass zwar nach erhöhten Werten mit einem Maximum an Tag 3, es eben auch rasch zu einem Abfall der Konzentration kommt [142]. Dieses Ergebnis hätten wir mit Messungen von Proben im Verlauf eventuell bestätigen können. Wie eingangs erwähnt, konnten van Setten et al. in ihrer Arbeit MOs und PMNs vermehrt im Nierengewebe von an HUS erkrankten Patienten nachweisen. Sie konnten außerdem noch nachweisen, dass es signifikant höhere Werte für IL-8 als auch CCL2/MCP-1 im Vergleich zu den Kontrollgruppen gab, wobei die höchsten Konzentrationen bei Patienten mit Anurie gemessen wurden [141]. Man kann demnach annehmen, dass die lokale Wirkung der Chemokine stärker ist, als die systemische und im Urin die Konzentration der entsprechenden Parameter auch bei unseren Patienten anders ausgefallen wäre.

Auch Inward et al. konnten die Zytokine teils nur im Urin nachweisen, aber auch im Plasma für CXCL8/IL-8 [139]. Urin als Material stand für diese Studie nicht zur Verfügung. Das völlig andere Ergebnis für CCL2/MCP-1 ist überraschend, denn auch für dieses Chemokin konnten van Setten und Kollegen signifikant höhere Konzentrationen im Vergleich zu gesunden Kindern bestimmen. Da die Konzentrationen in der vorliegenden Studie bei den Patienten ohne neurologische Symptomatik nicht signifikant höher sind, ist eine abschließende Beurteilung aus unserer Sicht nicht möglich. Höchstwahrscheinlich ist auch hier der Zeitpunkt der Abnahme entscheidend sowie das Patientenkollektiv. Hierzu ist anzumerken, dass CCL2/MCP-1 in anderen Arbeiten meist bei HUS-Patienten nachgewiesen und mit gesunden Probanden verglichen wurden ist. Wie Semple et al. berichten, führen Glukokortikoide zu einer verminderten Produktion von CCL2/MCP-1 [144]. Fast alle Patienten in unserer Studie mit neurologischen Symptomen haben Steroide bekommen. Zum Abnahmezeitpunkt unserer Blutprobe dürften die Steroide noch nicht verabreicht worden sein und somit keinen Einfluss genommen haben. Mit Sicherheit ausschließen können wir es aber nicht. An der Stelle zeigt sich ganz klar die Grenze der Studie und des EHEC-Registers. Zu überlegen ist auch, dass CCL2/MCP-1 eventuell zwar eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von HUS spielt, aber nicht bei der Ausbildung neurologischer Komplikationen. Dafür würde auch die eventuelle protektive Wirkung und Teilnahme an Reparaturvorgängen durch die mögliche Bewirkung einer Differenzierung von Zellen sprechen [144]. Gleiches gilt für CCL5/Human Rantes, denn auch hier zeigten sich erhöhte Werte für die ONS-Gruppe. Beide weisen damit eine entsprechende Tendenz auf.

IL-17A ist ein zentraler Akteur des Immunsystems und induziert unter anderem die Expression von Genen für IL-6 und zusammen mit TNF $\alpha$  die Gene für CCL5, CXCL8, CXCL9 und CCL2/MCP-1 [145], [146]. Außerdem berichten Hot et al. das IL-17A und TNF $\alpha$  eine prothrombotische Wirkung auf Gefäße haben [146]. Wir konnten in unserer Studie eine Tendenz in Bezug auf höhere Konzentrationen in der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen finden. sTNFR1 als löslicher TNF-Rezeptor und biologischer Parameter für den Effekt von TNF $\alpha$  war nicht signifikant. Es hat sich aber in der MNS-Gruppe gezeigt, dass IL-17A signifikant stark positiv mit IL-6 und IL-10 korreliert (siehe Abb. 4.9). Des Weiteren korreliert es mittel bis stark positiv mit MMP9 und dessen Gegenspieler TIMP1. Dies lässt uns vermuten, dass

IL-17A auch in der Pathogenese des HUS mit neurologischer Symptomatik seiner Funktion als proinflammatorisches Zytokin durch die Expression zahlreicher entzündungsfördernder Gene nachkommt. Für sTNFR1 konnte keine signifikante Korrelation in der MNS-Gruppe für die Interleukine nachgewiesen werden, aber eine starke positive Korrelation mit CXCL8/IL-8. Der fehlende Nachweis für die Korrelation könnte unter anderem darauf zurückzuführen sein, dass nicht TNF $\alpha$  direkt bestimmt worden ist. Shimizu et al. und auch Shiraishi et al. konnten für sTNFR1 signifikant höhere Werte für Patienten mit einem schweren HU-Syndrom bzw. mit neurologischen Symptomen detektieren. Bei Gegenüberstellung der Mediane von Shiraishi et al. und unseren Konzentrationen, ist zu sagen, dass unser Ergebnis in dem Bereich liegt wie das Ergebnis von Shiraishi und seinen Kollegen bei Patienten ohne Enzephalopathie. Wie auch für die anderen Zytokine gilt auch hier, dass es sich um Kinder handelte, als auch um einen anderen Serotyp. Shimizu et al. nimmt mit Unterscheidung zwischen schweren und milden Krankheitsverlauf eine andere Gruppeneinteilung vor, ohne genauer auf die neurologische Symptomatik einzugehen [31], [32].

IL-10 übernimmt in seiner Funktion unter anderem die Hemmung von Interferon- $\gamma$  und damit die bakterieneliminierende Wirkung. Es wird postuliert, dass es dadurch zu einer längeren Verweildauer der Bakterien kommt und somit die Freisetzung und damit die Wirkung des Shiga-Toxins länger andauern kann und das Risiko für Komplikationen steigt [147], [148]. Auf der anderen Seite übt IL-10 durch seine hemmende Wirkung einen protektiven Effekt aus und schützt vor einer überschießenden Immunantwort [48]. Im Gegensatz zu Yamamoto et al. und Shiraishi et al. konnten wir in dieser Arbeit weder einen signifikanten Unterschied, noch ähnliche Ergebnisse nachweisen [32], [138]. Wir haben höhere Konzentrationen für die Patienten ohne neurologische Symptome gemessen, was dem vorhergehenden Gedankengang von Yamamoto et al. widersprechen würde. Es besteht die Möglichkeit, dass es aufgrund der kleinen Gruppenstärken zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen ist und anhand einer größeren Stichprobe festgestellt werden könnte, wie sich IL-10 bei EHEC-HUS verhält. Aktuell kann bei Betrachtung aller drei Arbeiten aus unserer Sicht keine einheitliche Schlussfolgerung gezogen werden (siehe Tab. 5.1).

Wie auch bei Shiraishi et al. wurde in unserer Studie weder für sE-Selectin noch für MMP9 ein signifikanter Konzentrationsunterschied bestimmt. Der Gegenspieler von MMP9 TIMP1 wurde von Shiraishi et al. mit signifikant höheren Werten bei Patienten mit neurologischer Symptomatik gemessen. Dieses Ergebnis konnten wir nicht wiederholen. Die gemessenen Konzentrationen von MMP9 und TIMP1 lagen nicht annähernd im angegebenen Messbereich von Shiraishi et al., trotz gleicher Messmethode mittels ELISA, auch wenn die jeweils höheren Ergebnisse in der MNS-Gruppe zu verzeichnen waren (siehe Tab. 5.1). Für sE-Selectin konnten wir genau wie Shiraishi et al. eine höhere Konzentration in der ONS-Gruppe ermitteln. Alle drei Parameter können bei einem Schaden bzw. einer Störung der Blut-Hirn-Schranke oder im Rahmen eines Endothelschadens erhöht sein. Wie auch bereits von Shiraishi et al. beschrieben, wurden vor allem MMP9 und TIMP1 bei anderen neurologischen Erkrankungen nachgewiesen. Somit sind weitere Studien und Forschungsergebnisse nötig, um Rückschlüsse ziehen zu können [32].

Um die Ergebnisse unserer Arbeit besser einordnen zu können, haben wir nach Korrelationen zwischen den einzelnen Entzündungsmediatoren innerhalb der Gruppe mit neurologischen Symptomen sowie in der Gruppe ohne neurologische Symptome gesucht. Dies wurde ebenfalls in Bezug auf die Entzündungsmediatoren und dem Routinelabor durchgeführt.

Bei den MNS-Patienten wurde eine signifikant stark positive Korrelation zwischen den Interleukinen IL-6, IL-10 und IL-17A und auch anderen Entzündungsmediatoren wie MMP9, CXCL8/IL-8, sTNFR1 und sE-Selectin festgestellt (siehe Abb. 4.9). Es erscheint durchaus möglich, dass die proinflammatorischen Zytokine den Entzündungsprozess unterhalten und damit einen insgesamt schweren Krankheitsverlauf verursachen. Auch die stark signifikant positive Korrelation von sTNFR1 zu LDH, die stark negative Korrelation zu den Thrombozyten von sTNFR1, sowie von LDH, Thrombozyten und Kreatinin weisen in unseren Augen auf schwere Verläufe einer EHEC-Infektion mit HUS hin. Bezüglich IL-10 würden wir in Zusammenschau der Ergebnisse der Korrelation und dem Vergleich zwischen MNS und ONS dem Gedankengang von Yamamoto et al. widersprechen [138]. Wir nehmen an, dass die hohen Konzentrationen von IL-10 sowohl bei Patienten mit HUS als auch bei den Patienten mit HUS und neurologischen Symptomen vorhanden sind, um das Gewebe zu schützen und seiner Funktion als antiinflammatorisches

Zytokin nachzukommen. Weiterhin ist hervorzuheben, dass alle drei genannten Interleukine stark positive Korrelationen zu TIMP1 haben, welche signifikant sind. Für MMP9 ist dies zu IL-6 und IL-10 der Fall, zu IL-17A ist nur eine Tendenz zu sehen. Wie von Shiraishi et al. bereits beschrieben, wird durch MMP9 und TIMP1 ein Endothelschaden im Bereich der BHS angezeigt [32]. Nun kann vermutet werden, dass die Schädigung der BHS entweder durch die proinflammatorischen Zytokine mit bedingt ist oder die Konstellation der Korrelationen bei den Patienten mit neurologischen Symptomen lediglich ein Ausdruck der Schwere der Erkrankung ist. Für eine Mitbeteiligung an der Neuroinflammation und Schädigung des Endothels spricht auch die signifikant positive Korrelation in unserer Arbeit von sTNFR1 und sE-Selectin. Die Hypothese wird von den Erkenntnissen von Sato et al. unterstützt, die gezeigt haben, dass TNF $\alpha$  zu einer Endothelzellverletzung und damit zur Schädigung der BHS führt und als weiterer Marker für einen Endothelschaden sE-Selectin herangezogen werden kann, wie von Boehme et al. bereits festgehalten [109], [129]. Diese Erkenntnisse werden durch die Arbeit von Eisenhauer et al. unterstrichen. Sie konnten eine vermehrte Expression von Zytokin-mRNA (u. a. IL-6) nach Stimulation mit STx als auch nach Stimulation mit STx und TNF $\alpha$  nachweisen wie auch eine gesteigerte Sekretion der Zytokine [35].

Bei Betrachtung der Korrelation innerhalb der Gruppe der Patienten ohne neurologische Symptome (siehe Abb. 4.10) fallen immer wieder die gleichen Ergebnisse auf. Hierzu ist die Gruppenstärke von vier Werten zu betrachten, welche für die Korrelationsbestimmung lediglich verwendet werden konnten. So kann in der Gruppe der Patienten ohne neurologische Symptomatik insgesamt nur von Hinweisen ausgegangen werden. Weitere Untersuchungen, vor allem mit einem größeren Patientenkollektiv, wären sinnvoll, um signifikante Schlussfolgerungen ziehen zu können. Da die Erkrankung allerdings selten ist, ist dies schwierig und auch in der Literatur sind die Fallzahlen selten über 20 (siehe Tab. 5.1).

**Tab. 5.1: Zusammenfassung der Ergebnisse verschiedener Autoren von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen bei EHEC-HUS**

	<b>Studie UMG (unsere Studie)</b>		<b>Yamamoto et al.[138] (2000)</b>		<b>Shiraishi et al. [32] (2008)</b>		<b>van de Kar et al. [137] (1995)</b>		<b>Murata et al. [149] (1998)</b>			<b>van Setten et al. [141] (1998)</b>			<b>Inward et al. [139] (1997)</b>		<b>Fitzpatrick et al. [142] (1992)</b>	
<b>Serotyp</b>	E. coli O104:H4 Deutschland (2011)		E. coli O157 Japan (1996)		E. coli O157(22x), O121(2x), O1(1x), O165(1x) Japan (1998-2007)		E. coli O157		E. coli O157 (1996)			E. coli O157 (1991-1995)			E. coli O157			
<b>Material</b>	Serum-Proben von Erwachsenen		Serum-Proben von Kindern		Serum-Proben von Kindern		Plasma- Proben von Kindern		Plasma- Proben von Kindern u. Erwachsenen			Serum-Proben von Kindern			Plasma-Proben		Serum- Proben von Kindern	
<b>Mess- methode</b>	ELISA und CBA-Flex-Kit		ELISA		ELISA und CBA-Flex-Kit		ELISA		ELISA			ELISA			ELISA		ELISA	
<b>Patienten- kollektiv</b>	MNS	ONS	HUS	HC	MNS	HUS	MNS	HUS/ KGr	HUS			HUS	KGr	GP	HUS	KGr	HUS	KGr
Statistik	n=27 <sup>1</sup>	n=8	n=11	n=9	n=6	n=10	n=4	n=16	n=12			n=14 <sup>2</sup>	n=14	n=18	n=19	n=10	n=25	n=17
	Median (range)		Median (range)		Median (range)		MW (+/- SD)		range			Median (range)					Median (range)	
<b>Parameter</b>																		
IL-6 [pg/ml]	12,1 (2,9; 353,1)	8,3 (3,2; 166,6)	27,2** (13,9; 43,9)	8,0 (1,95; 10,3)	28* (14; 1352)	8,7 (< 2,5; 44,9)	277** (+/- 103)	< 30	4,20 - 175			---			1/19 650 <sup>3</sup>	---	---	
CXCL-8/IL-8 [pg/ml]	23,6 (5,3; 276,9)	10,2 (7,2; 119,4)	154* (98,4; 485)	35,1 (6,33; 94,7)	---		---		10,2 - 724,7			145** (< 31; 21435)	11x < 31 pg/ml		1070 (625; 80000)	k. A.	305** (n. m.; 3300)	n. m.
CCL2/MCP-1 [pg/ml]	33,6 (12,8; 299,4)	71,9 (11,4; 211,1)	---		---		---		---			270* (115; 1448)	200 (79; 361)	208 (<31; 460)	---		---	
IL-10 [pg/ml]	5,7 (1,22; 79,32)	17,2 (1,3; 113,31)	266*** (112; 329)	5,10 (4,18; 7,78)	22,1 (<2,8; 263,5)	3,8 (<2,8; 277,2)	---		10,4 - 2995			---			---		---	
sTNFR1 [pg/ml]	6896 (2092; 22735)	4532 (2556; 18296)	---		19850** (13340; 31180)	6520 (2940; 19740)	---		---			---			---		---	
sE-Selectin [ng/ml]	4,42 (2,10; 7,28)	5,61 (3,38; 6,35)	---		155,7 (88,2; 373,6)	198,2 (38,4; 352,4)	---		---			---			---		---	
MMP9 [ng/ml]	1086,8 (54,9; 1941,5)	668,8 (264,6; 2163,8)	---		183,6 (133,6; 301,2)	151,1 (55,1; 189,6)	---		---			---			---		---	

TIMP1 [ng/ml]	48,45 (3,6; 172,0)	22,3 (2,9; 200,5)	---		719,0** (319,2; 1175)	274,8 (85,2; 716,5)	---	---	---	---	---	
<b>Paraklinik</b>												
Hb [mmol/l]	7,0 (3,9; 10,2)	7,1 (5,5; 7,9)	---		5,9 (5,1; 7,5)	4,7 (3,6; 7,7)-	3,9 - 9,2	---	---	---	---	
PLT [Gpt/l]	43* (15; 282)	80 (37; 279)	28*** (23; 44)	259 (197; 271)	46 (27; 117)	26 (15; 209)	11 - 304	4 - 109	---	---	---	
LDH [µkat/l]	17,15 (3,3; 43,1)	13,9 (3,2; 56,6)	41,8*** (36,6; 52,9)	6,7 (5,6; 7,3)	58,4 (25,5; 73,4)	36,5 (28,0; 60)	---	4,7 - 41,35	---	---	---	
Krea [µmol/l]	194,5* (51,3; 665,7)	137,0 (63,6; 168,8)	83,9*** (69,8; 139,7)	26,5 (26,2; 41,5)	147,6 (13,26; 1202,24)	139,7 (12,4; 285,5)	54 - 335	35,4 - 645,3	---	416x 10 <sup>3</sup> ** (74000; 1046x 10 <sup>3</sup> )	52 x10 <sup>3</sup> (41000; 69000)	---

MNS = HUS mit neurologischen Symptomen; ONS = ohne neurologische Symptome; HUS = hämolytisch-urämisches Syndrom; HC = hämorrhagische Colitis; KGr = gesunde Kinder als Kontrollgruppe; GP = Kinder mit entzündlichen und nichtentzündlichen Glomerulopathien; n. m. = nicht messbar, k. A. = keine Angabe

<sup>1</sup> - aufgrund von Fehlmessungen schwankt die Anzahl n für MNS zwischen 23-27

<sup>2</sup> - eigentlich 16 HUS-Patienten, von 14 waren Serum-Proben vorhanden; 4/16 Patienten mit neurologischen Symptomen

<sup>3</sup> - einziges Kind mit extrarenalen Symptomen

Signifikanzniveaus: \* p < 0,05; \*\* p < 0,01; \*\*\* p < 0,001



### **5.3. Gegenüberstellung Plasmapherese und Immunadsorption**

Während der EHEC-Epidemie 2011 wurden aufgrund der teils schwerwiegenden Verläufe sowie der doch mangelnden Erfahrung unterschiedliche Therapiestrategien verfolgt.

Die Deutsche Gesellschaft für Nephrologie gab die Empfehlung zur Anwendung des therapeutischen Plasmaaustausches bei Patienten mit HUS und renaler und/oder neurologischer Komplikationen und wies gleichzeitig daraufhin, dass es hierzu keine kontrollierten Studien gab. Unterstützt wurde die Therapieempfehlung von der amerikanischen Apherese-gesellschaft [11], [24]. Zahlreiche behandelnde Kliniken führten den Plasmaaustausch mit oder ohne Glukokortikoidgabe durch. Die Ergebnisse deuten allerdings daraufhin, dass es keinen oder nur einen geringfügigen Nutzen für den Plasmaaustausch gibt. So wurde von Menne et al. die Plasmapheresebehandlung von 251 Patienten untersucht und ausgewertet. Das Resultat war, dass im Vergleich zu den Patienten, die keinen Plasmaaustausch bekamen oder eine verkürzte Behandlung zur Anwendung kam, es keinen eindeutigen Unterschied gab, wobei sich Hinweise auf einen Vorteil bezüglich des verkürzten Behandlungsprotokolls zeigten [11], [24]. Auch Kielstein et al. konnten in einer retrospektiven Studie zu den Erkrankungsfällen von 2011 keinen Vorteil der Plasmapheresebehandlung im Vergleich zu anderen Therapieverfahren wie der Gabe von Eculizumab, Best Support Care-Konzepten oder einer Kombination dokumentieren [46]. In unserer Arbeit erkannten wir in der Einzelfallbetrachtung bis auf bei sTNFR1 keinen Effekt auf die Zytokinelimination durch den Plasmaaustausch. Beide Patienten gehörten zu der Gruppe mit neurologischen Symptomen.

Die teils doch deutlichen Anstiege der Entzündungsmediatoren könnten dadurch bedingt sein, dass es aufgrund des Entzugs der Faktoren zu einer stärkeren Nachbildung kam. Durch das gleichzeitige Entziehen des Gegenspielers von TIMP1 wird der Effekt des entsprechenden Gegenspielers für MMP9 gebremst, was den doch sehr starken Anstieg erklären könnte. Der prozentuale Anstieg des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 lässt sich auf den einen Ausreißer zurückführen. Dennoch ist hier bei Betrachtung der Einzelwerte entweder ein kleiner Anstieg zu erkennen oder kaum eine Änderung, sodass von keinem Effekt der Plasmapherese auf IL-10 ausgegangen werden kann, oder die Nachproduktion deutlich stärker im Verlauf war.

Aufgrund des Versagens der oben genannten Therapieverfahren entschlossen sich die Mediziner der Universitätsmedizin Greifswald zur Anwendung einer Immunadsorption als Rescue-Therapiemaßnahme. Noch während der Anwendung des Verfahrens wurde klinisch eine Verbesserung vor allem der neurologischen Symptomatik festgestellt [22]. Unser Ziel war, durch Bestimmung der Zytokine den entscheidenden Abfall nachzuweisen. Dies ist uns für alle Parameter (IL-6, IL-10, IL-17A, CCL5 und MMP9) gelungen. Den stärksten Konzentrationsabfall konnten wir für IL-6 detektieren. Lediglich die Reduktion von sTNFR1 war durch die Immunadsorption nur minimal. Im Gegensatz dazu konnte hier bei der Plasmapherese ein deutlich stärkeres Ergebnis erzielt werden.

Allerdings kann nicht gesagt werden, dass der Abfall allein durch die Immunadsorption hervorgerufen wurde, da teils zwischen den Zyklen der Immunadsorption mehr als eine Woche lag und vermutlich allein die Zeit hier ihren Anteil hat. Des Weiteren bleibt nach wie vor die Frage, in welchem Maße die Reduktion der Zytokinkonzentration zu einer Verbesserung der Symptomatik führte. Die Rationale hinter der Immunadsorption war, Autoantikörper gegen Superantigene (welche unter anderem Shigatoxin, Gb3 und Thrombozyten enthalten) gemeinsam mit diesen zu entfernen. Insgesamt beruhen unsere Daten auf kleinen Fallzahlen, teils nur auf einzelnen Fällen. Es braucht eine größer angelegte Studie, welche den Nutzen der Immunadsorption als mögliche Therapieoption bei schwer verlaufendem HUS bestätigt, so wie in den Einzelfällen aus Frankreich beschrieben [47] [101]. In beiden Fällen wurde von der Kombination von Immunadsorption und Eculizumab gesprochen. Auch drei der Patienten, die an der Universitätsmedizin Greifswald mit Immunadsorption behandelt worden sind, erhielten den Antikörper Eculizumab. Den Einfluss von Eculizumab auf das Zytokinmuster oder auch der synergistische Effekt von Eculizumab und die Anwendung der Immunadsorption gilt es herauszufinden. Auch die Gabe der Immunglobuline nach der Immunadsorption könnte zur Genesung beigetragen haben. Wie in der Arbeit von Ashkenazi et al. zu entnehmen ist, konnte ein neutralisierender Effekt auf das Shiga-Toxin nachgewiesen werden. Allerdings handelt sich bei deren Untersuchung um andere Serotypen von E. coli als auch um das Toxin von S. dysenteriae [128]. Es stellt sich die Frage, ob das verabreichte IgG auf das Shiga-Toxin des Erregers E. coli vom Serotyp O104:H4 ebenfalls einen antizytotoxischen Effekt hat.

## 5.4. Follow-up-Untersuchung

Ein wichtiger Aspekt dieser Arbeit war die Nachuntersuchung der EHEC-HUS-Patienten mit neurologischen Symptomen, die an der UMG behandelt wurden. Wie auch wir von der Universitätsmedizin Greifswald beschrieben Magnus et al., Weissenborn et al. und Schuppner et al. zum Teil sehr schwerwiegende Verläufe der EHEC-HUS-Erkrankung. Umso positiver überrascht waren wir, dass bis auf wenige Ausnahmen die Patienten im Langzeitverlauf keine neurologischen Defizite zurückbehielten [19], [22], [45], [79]. Bei den Follow-up-Untersuchungen des Studienkollektivs von Magnus et al., die nach acht Monaten durchgeführt wurden, zeigten lediglich drei Patienten weiterhin neurologische Symptome [19]. Etwas anders war das Ergebnis der nachuntersuchten Patienten von Weissenborn et al., wo sechs von acht Patienten noch über Konzentrationsschwierigkeiten und Wortfindungsstörungen klagten. Allerdings erfolgte das Follow-up nach acht Wochen. Bei unseren Patienten erfolgte die Nachuntersuchung nach 30 Monaten. Es lag keine spezifische Beschwerdesymptomatik in Bezug auf die EHEC-HUS-Erkrankung vor und das Outcome ist insgesamt als sehr gut zu beschreiben. Weiter ist festzuhalten, dass alle Patienten noch neurologische und neuropsychologische Einschränkungen zum Zeitpunkt der Entlassung hatten, wodurch eine stationäre Anschlussheilbehandlung zwingend erforderlich gewesen war. Vor allem im Bereich der Neuropsychologie und Neurologie waren die meisten Symptome regredient. Leichte Residuen zeigten sich vor allem in der neurologischen Nachuntersuchung. Eine Patientin bot auch nach 30 Monaten noch eine Gangunsicherheit und Schwindelsymptomatik, welche medikamentös behandelt wird, auf. Neuropsychologisch zeigte sich bei dieser Patientin ein leichtes kognitives Defizit. Ob diese Symptome Folgen der Erkrankung bzw. des intensivmedizinischen Settings sind oder Erscheinungen des Alters bzw. einer Grunderkrankung, lässt sich nicht mit Sicherheit sagen. Bei einem weiteren Patienten konnte die bestehende Sehstörung ebenfalls nach 30 Monaten weiterhin festgestellt werden sowie die Parese der linken Schulter. Geschmacksstörungen wiesen zwei von fünf Patienten auf und werden als Folgen der EHEC-Erkrankung angesehen. Weissenborn et al. als auch Schuppner et al. kamen mit einer Folgestudie teils zu anderen Ergebnissen, wobei die Nachuntersuchungen zu einem deutlich früheren Zeitpunkt stattfanden. In der Studie von Weissenborn und ihren Kollegen klagten sechs Patienten nach acht Wochen noch über Konzentrations- und Wortfindungsstörungen [45]. Schuppner und ihr

Team führten Follow-up-Untersuchungen zusätzlich noch nach sieben und 19 Monaten durch. Nach 19 Monaten wiesen mehr als die Hälfte der Patienten grenzwertige Testergebnisse auf. So beschrieben einige Patienten auch Schwierigkeiten bei der Durchführung alltäglicher Aktivitäten. Dies zeigte sich mit einer Abnahme der Ergebnisse in den Tests für visuokonstruktive Fähigkeiten und verbalen Lernens in der Untersuchung nach 19 Monaten, nachdem es zuvor in der 7-monatigen Nachuntersuchung zu einer Verbesserung kam [79].

Im Unterschied zu den anderen Autoren wie beispielsweise Nathanson et al. wies die Bildgebung im akuten Stadium der Erkrankung und demzufolge auch bei der Follow-up-Untersuchung unserer Patienten keine Auffälligkeiten auf [43]. Ungewöhnlich scheint dies allerdings nicht zu sein, da auch Steinborn et al. neben pathologischen MRT-Befunden auch von normalen CT/MRT-Befunden bei neurologischen Symptomen berichtete [44]. Magnus et al. beschrieb in seiner Studie ebenfalls pathologische Befunde, unter anderem zeigten sich symmetrische Hyperintensitäten in der T2-gewichteten Aufnahme. Ein Teil der untersuchten Patienten (25 %) mit einem schweren Krankheitsverlauf wiesen aber auch einen normalen MRT-Befund auf. In der Follow-up-Untersuchung konnte bereits bei der ersten Nachuntersuchung bei 76 % der Patienten, die zuvor Veränderungen im MRT zeigten, ein Normalbefund festgestellt werden [19]. Die Arbeit von Löbel et al. unterstreicht das breite Spektrum von neurologischen Symptomen und normalen bis pathologischen Befunden in der bildgebenden Diagnostik. In der Studie wurden 104 MRTs von 57 Patienten ausgewertet, wovon 51 (49 %) abnorme Signalintensitäten aufwiesen. Ein pathognomonisches Muster konnte nicht entdeckt werden. In der Nachuntersuchung zeigten 18/30 (60 %) Patienten einen normalen MRT-Befund. Schädigungen von kleinen Gefäßen im Rahmen einer TMA konnten nicht erkannt werden. Am häufigsten zeigten sich wie bei Magnus et al. hyperintense Läsionen im bilateralen Thalamus, bilateraler Pons und Splenium des Corpus callosum. Die hyperintensiven Läsionen des Thalamus und der dorsalen Pons in der T2-gewichteten Aufnahme aufgrund einer Diffusionsstörung können Zeichen einer metabolisch-toxischen Genese sein [151]. Ablagerungen in der weißen Substanz fanden Schuppner et al. in den MRT-Befunden bei fast 50 % des Studienkollektivs. In der Nachuntersuchung nach sieben Monaten waren diese Pathologien nicht mehr nachweisbar [79].

Bisher konnten nur Langzeitverläufe von Kindern dokumentiert werden. Hierbei zeigten sich bei 4 % der betroffenen Kinder neurologische Folgeschäden [38]. In der Studie von Nathanson et al. verstarben 17 % der Patienten mit neurologischen Symptomen bzw. an den Komplikationen und 23 % behielten Folgeschäden [43].

Eine Follow-up-Untersuchung aller 35 Patienten, von denen die Blutproben im Rahmen dieser Studie untersucht wurden, konnte aus Kapazitäts- und Organisationsgründen nicht durchgeführt werden. Diese Patienten wohnen im gesamten Bundesgebiet, sodass wir nur die Greifswalder Patienten nachuntersuchten. Jedoch kann dem EHEC-Register entnommen werden, dass fünf von 35 (14 %) Patienten bei der Entlassung noch leichtgradige neurologische Symptome hatten. Dazu zählten einmal eine eingeschränkte Mobilität, einmal Kopfschmerzen, jeweils einmal eine verminderte Belastbarkeit und Müdigkeit und zweimal Sprach- und Sprechstörungen. Zu vier der 35 Patienten lagen uns keine Informationen vor.

In unserer Follow-up-Untersuchung konnten wir hinsichtlich der Nierenfunktion einen Abfall des Serumkreatinins in den altersentsprechenden Normbereich und eine Zunahme der glomerulären Filtrationsfraktion verzeichnen. Dennoch weisen alle fünf Patienten eine chronische Nierenerkrankung Stadium CKD-G2 auf und drei Patienten sogar durch die bestehende Proteinurie das Stadium CKD-G2A2. Inwiefern dies eine Verschlechterung der Nierenfunktion im Vergleich zu vor der Erkrankung darstellt, kann aufgrund fehlender Vorbefunde nicht beurteilt werden. Auch die Ergebnisse in der 2018 veröffentlichten Studie von Albersmeier et al. deuten daraufhin, dass sich die Nierenfunktion der meisten in 2011 an EHEC-HUS erkrankten Patienten erholt [8]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kommen auch Derad et al. aus Lübeck. Sowohl die schwer an EHEC-HUS erkrankten Patienten als auch die Patienten mit einem milden Verlauf zeigten ein Jahr nach der EHEC-HUS-Erkrankung eine leicht bis mittelgradige Einschränkung der Nierenfunktion [150]. Vor allem bei Kindern unter sechs Jahren, aber auch bei älteren Menschen kann in über 10 % der Fälle ein terminales Nierenversagen auftreten [61]. Sonografisch konnten wir keine die Niere betreffenden Pathologien in der Nachuntersuchung nachweisen. Reising et al. konnten in der Akutphase deutliche Veränderungen des Nierenparenchyms im Sinne einer Verdickung des Nierenparenchyms, einer Zunahme der Echogenität der Kortikalis sowie eine Vergrößerung der Nieren bei 28/41 Patienten feststellen. Der

RI-Wert lag signifikant oberhalb des Normwertes. In der Nachuntersuchung bereits ca. 6 Wochen nach Aufnahme konnte sonografisch eine normale Nierengröße, eine Abnahme der Parenchymdicke sowie der Echogenität ermittelt werden. Auch der RI lag wieder innerhalb des Normbereichs [152].

Sekundäre Schädigungen, wie die Entwicklung eines Bluthochdrucks, wurden nicht festgestellt. Dies kann aber, wie Karch, Bockmühl et al. beschreiben, in bis zu 50 % der Fälle beobachtet werden [61]. Auch die Kollegen aus Lübeck haben in ihrem Ein-Jahres-Follow-up bei neun Patienten nach schwerer EHEC-HUS-Erkrankung mit neurologischen Symptomen einen behandlungspflichtigen Bluthochdruck nachgewiesen, welcher vorher nicht bestand [150]. Weitere sekundäre Folgeschäden sind neben den genannten unter anderem auch die Proteinurie, Glucoseintoleranz bis hin zum Diabetes mellitus oder auch eine chronische Pankreatitis [61]. Im Vergleich zu den nicht durch STEC-bedingten HUS-Formen sind die Langzeitschäden in Bezug auf Nierenfunktion und Blutdruck im Allgemeinen besser. Generell ist festzuhalten, dass nach einer HUS-Erkrankung im Langzeitverlauf das Risiko für die Entwicklung eines arteriellen Hochdrucks oder einer chronischen Nierenerkrankung steigt. Sheiring et al. berichten, dass diese Folgeschäden knapp 10 Jahre nach der akuten Erkrankung bei 39 % von 61 an HUS erkrankten Kindern auftraten [92]. Es gilt abzuwarten und weitere Nachuntersuchungen durchzuführen, um festzustellen, ob sich diese Erkenntnisse auch bei den betroffenen erwachsenen HUS-Patienten zeigt, um in diesem Fall möglichst frühzeitig die notwendigen Therapieschritte einleiten zu können.

## **5.5. Limitationen**

Für alle durchgeführten Messungen und deren Ergebnisse sind eindeutig Limitationen vorhanden. Diese müssen bei der Interpretation der Ergebnisse und Vergleich mit anderen Studien beachtet werden. Zu diskutieren ist der Zeitpunkt, die Art und Weise sowie die Lagerung der Blutproben, welche in unserer Studie verwendet wurden als auch die Informationen aus dem EHEC-Register, welches während der Epidemie ad hoc entstanden ist. In der Akutphase bestand noch keine einheitliche Registerstruktur. All diese Komponenten wurden durch Dritte erfasst und durchgeführt und stehen außerhalb unseres Einflusses. So kam es auch, dass nicht immer alle Informationen der 621 im Register erfassten Patienten vollständig waren. Nur zu 95 von 621 Patienten gab es eine Blutprobe, wovon wiederum 84 Patienten

einen ausreichenden Datensatz hatten, um sie in diese Studie einzuschließen. Aufgrund unserer Einschlusskriterien untersuchten wir schlussendlich die Blutproben von 35 Patienten. Auch die Menge an Blutproben variierte sehr stark, so dass es auch bei der Bestimmung der Entzündungsmediatoren und aufgrund von Fehlmessungen sowie Probleme mit dem Test-Kit zu einer unterschiedlichen Anzahl kam.

Durch das plötzliche Auftreten einer hohen Anzahl an Patienten mit EHEC-HUS standen die behandelnden Kliniken vor einer großen Herausforderung. Da es keine einheitliche Therapieempfehlung gab, kam es zu sehr unterschiedlichen diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen ohne einheitlichen Standard, die oftmals aufgrund mangelnder Erfahrung mit dem Krankheitsbild an die entsprechende klinische Situation angepasst werden mussten, wie beispielsweise die Anwendung der Plasmapherese oder der Immunadsorption.

Wir gehen davon aus, dass aus Gründen der genannten Einflussfaktoren es zu unterschiedlichen Ergebnissen im Vergleich zu den anderen Autoren gekommen ist [31], [32], [137-139], [141], [142]. Offen bleibt, ob bei einer größeren Stichprobe andere Ergebnisse hätten ermittelt werden können. Der Umfang des Studienkollektivs ist auch bei den anderen Autoren ähnlich klein und es wäre zu prüfen, ob die Ergebnisse bei einer umfangreicheren Studie reproduzierbar sind.

Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei E. coli O104:H4 um einen anderen Serotypen und somit ist ein anderes Infektionsgeschehen möglich. Dagegen spricht allerdings die Arbeit von Shiraishi und seinen Kollegen. Sie haben Blutproben von an HUS erkrankten Kindern untersucht und dabei außerdem vier verschiedene Serotypen nachgewiesen (O157, O121, O1 und O165) [32]. Ein weiteres auffälliges Kriterium ist, dass es sich bei dem Ausbruch in Deutschland 2011 um Erwachsene mittleren Alters gehandelt hat und nicht wie bisher in den aller meisten Fällen um Kinder.

Diskutabel ist, ob weitere Proben im Verlauf hätten gemessen werden sollen. Da der Zeitpunkt der Probe bezogen auf den Tag der Erkrankung durchaus variiert, könnten bei Verlaufsmessungen weitere Erkenntnisse gewonnen werden. Allerdings ist es schwierig bei unterschiedlichen therapeutischen Maßnahmen die verschiedensten Einflussfaktoren zu berücksichtigen und zu bewerten. Dies galt es zu vermeiden. Wie wir auch in unserer Arbeit selbst feststellen konnten, sind der Nutzen bzw. der Effekt

der Plasmapherese oder auch der Immunadsorption auf das Krankheitsgeschehen sowie anderen Therapiemaßnahmen nicht geklärt.

Die Limitation unserer Follow-up-Untersuchung ist vor allem die kleine Patientenanzahl, auch wenn wir erfreulicherweise fünf von sechs Patienten, die an der Universitätsmedizin Greifswald behandelt wurden, nachuntersuchen konnten. Alle klinischen Untersuchungen sind nach standardisierten Vorgaben erfolgt. Während der akuten Krankheitsphase ist der neurologische Status der Patienten mittels eines Punktesystems hinterlegt wurden, um so den Verlauf übersichtlicher bewerten zu können.

## **5.6. Schlussfolgerung**

Während eines EHEC-Ausbruches in Japan 2011 wurden Zytokinkonzentrationen gemessen. Allerdings war der Ausbruchsstamm mit EHEC O111 ein anderer als in Deutschland zur fast gleichen Zeit. Hierzu konnte gezeigt werden, dass es zu einer massiven Hyperzytokinämie während einer HUS-Erkrankung gekommen war. So bestand ein signifikanter Unterschied zwischen schwereren und milden Verläufen einer EHEC-HUS-Erkrankung für IL-6, IL-8, sTNFR1 und andere Zytokine. Des Weiteren wurde gezeigt, dass es zu einem raschen Anstieg der Konzentrationen unmittelbar vor der Diagnosestellung eines HUS kam [31]. Diese Ergebnisse als Grundlage und Ausgangspunkt dieser Promotionsarbeit konnten in unserer Studie nicht bestätigt werden. Anhand unserer Studienlage kann die Wirkung der Zytokine im Rahmen einer EHEC-HUS-Erkrankung und ihre mögliche Rolle bei schweren Verläufen in unserem Studienkollektiv nicht abschließend beurteilt werden. Es braucht weitere Arbeiten, um die Rolle der Entzündungsmediatoren und Zytokine beim EHEC-HU-Syndrom zu untersuchen und eventuell Klarheit über deren Funktion zu schaffen, denn bisher ist die Studienlage uneinheitlich.

In Bezug auf das klinische Outcome der Patienten, können wir erfreulicherweise trotz schwerwiegenden Krankheitsverlaufs über ein gutes Langzeitergebnis berichten. Im Vergleich mit dem Outcome anderer Studien scheint die Prognose, insgesamt betrachtet, relativ gut zu sein. Dennoch sollten vor allem in Bezug auf die Nierenfunktion regelmäßige Kontrollen durchgeführt werden, um den Beginn oder Progress einer chronischen Nierenerkrankung rechtzeitig erkennen zu können. Ob die Plasmapherese oder die Immunadsorption als Therapieverfahren bei kritisch



kranken Patienten mit EHEC-HUS infrage kommt, ist weiterhin offen und sollte als Therapieansatz jedoch weiter verfolgt werden.

## 6. Zusammenfassung

Im Jahr 2011 kam es in Deutschland von Anfang Mai bis Ende Juli zu einem großen Ausbruch von Erkrankungsfällen des hämolytisch-urämischen Syndroms (HUS) und blutiger Diarrhöen durch Infektionen mit *Escherichia coli* des Serotyps O104:H4 [1]. Die während der Epidemie durch die DGfN erfassten Daten zu den erkrankten Menschen und die bundesweit gesammelten Blutproben, die für diese Studie zur Verfügung gestellt wurden, untersuchten wir hinsichtlich eines neuroinflammatorischen Prozesses auf pro- und antiinflammatorische Zytokine bzw. Entzündungsmediatoren. Des Weiteren wurde die Paraklinik der in dieser Studie eingeschlossenen Patienten ausgewertet und verschiedene Therapieansätze und deren Einfluss auf die Entzündungsmediatoren betrachtet. Dabei war die neurologische Symptomatik das Unterscheidungsmerkmal der beiden Gruppen des Studienkollektivs.

Abschließend führten wir nach 30 Monaten eine Follow-up-Untersuchung der an der Universitätsmedizin Greifswald mittels Immunadsorption behandelten Patienten durch.

Nach Auswertung der Ergebnisse kann konstatiert werden, dass das Patientenkollektiv im Auftreten der Symptomatik, dem zeitlichen Verlauf und der Häufigkeit, vor allem in Bezug auf die neurologische Symptomatik der von Gesamtdeutschland ähnlich ist.

Paraklinisch fielen bei den Patienten mit neurologischer Symptomatik bei EHEC-HUS signifikant höhere Kreatinin-Konzentrationen auf so wie im Verlauf signifikant höhere maximale Kreatinin-Konzentrationen, was eine stärkere Beeinträchtigung der Nierenfunktion bedeutet. Ebenfalls in der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen konnte eine signifikant niedrigere Anzahl von Thrombozyten und eine Tendenz in Bezug auf den niedrigsten Wert der Thrombozyten im Verlauf nachgewiesen werden. Dies deutet auf einen schwerwiegenderen Verlauf des hämolytisch-urämischen Syndroms hin.

Die Untersuchung der Entzündungsmediatoren IL-6, IL-17A, IL-10, CCL2/MCP-1, CCL5/Human Rantes, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, sE-Selectin, MMP9 und TIMP1 sowie sTNFR1 erfolgte von Blutproben vor jeglicher Therapiemaßnahme bzw. zum Aufnahmezeitpunkt. Es konnte bei keinem der Zytokine und Chemokine

ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (EHEC-HUS mit vs. ohne neurologische Symptome) ermittelt werden. Dennoch ließen sich teilweise starke signifikante Korrelationen innerhalb der Gruppe der Patienten mit neurologischen Symptomen nachweisen. Dies betraf vor allem Interleukine, was auf einen neuroinflammatorischen Prozess hindeutet.

Zum Vergleich der Plasmapherese und der Immunadsorption als Therapiemöglichkeit wurden einige der Entzündungsmediatoren im Verlauf von Einzelfällen bestimmt. Dabei konnte für sTNFR1 die stärkste prozentuale Reduktion durch die Plasmapheresebehandlung verzeichnet werden (58,4 %), während durch die Immunadsorption nur um 0,9 % reduziert wurde. Insgesamt scheint die Immunadsorption in der Reduktion der Entzündungsmediatoren effektiver zu sein als die Plasmapherese. Den stärksten Effekt sahen wir bei der Reduktion von IL-6 um 90,8 % (Plasmapherese 14,6 %)

In der durchgeführten Follow-up-Untersuchung von fünf Greifswalder Patienten, die mit Immunadsorption behandelt worden waren, zeigten sich keine höhergradigen Residuen nach der schweren Erkrankung. Nephrologisch fiel bei allen Patienten eine verminderte eGFR auf und bei drei Patienten zusätzlich eine Proteinurie, sodass es sich hier um eine eingeschränkte Nierenfunktion Stadium CKD-G2 bzw. CKD-G2A2 handelt. Neurologisch bestanden vor allem leichte Residuen im Rahmen der Critical Illnes-Polyneuropathie. Insgesamt konnten alle Patienten wieder in ihr normales alltägliches Leben zurückkehren.

## 7. Anhang

**Tab. 1.1: Charakteristika und Symptome der Greifswalder Patienten [22]**

	Patient No. 1	Patient No. 2	Patient No. 3	Patient No. 4	Patient No. 5
<b>Alter und Geschlecht</b>	63 Jahre, weiblich	42 Jahre, weiblich	58 Jahre, männlich	38 Jahre, weiblich	47 Jahre, weiblich
<b>E. coli O104</b>	ja	ja	ja	ja	ja
<b>Enteroinvasive Kolitis (Tage)</b>	5	6	8	7	4
<b>PLT [Gpt/L]</b>	22	18	22	56	36
<b>Fragmentozyten, höchste Konzentration (%)</b>	5,5	2,5	1,2	2,7	3,1
<b>Höchste LDH-Konzentration (µkatal/L)</b>	26	26	12,6	27	26
<b>Nierenversagen</b>	ja	ja	nein	ja	ja
<b>Neurologische Symptome</b>					
○ Myoklonus	ja	ja	ja	nein	ja
○ Psychose oder Delir	ja	ja	ja	ja	ja
○ Krampfanfälle	nein	ja	ja	nein	ja
○ Aphasie	ja	ja	nein	nein	ja
<b>Künstliche Beatmung während der neurologischen Symptomatik</b>	-	ja	ja	-	ja
<b>Nebenniereninsuffizienz</b>	ja	ja	ja	ja	ja
<b>Beginn der Thrombozytopenie nach Auftreten der Diarrhoe (Tage)</b>	3	3	4	3	3
<b>Beginn der neurologischen Symptome nach Auftreten der Diarrhoe (Tage)</b>	6	6	8	9	8
<b>Beginn des Nierenversagen nach Auftreten der Diarrhoe (Tage)</b>	5	6	-	5	15

**Tab. 1.2: Erfolgte Behandlungen während der akuten Krankheitsphase [22]**

	Patient No. 1	Patient No. 2	Patient No. 3	Patient No. 4	Patient No. 5
<b>Antibiotikatherapie Carbapenem</b>	ja	ja	ja	ja	ja
<b>Aktivkohle</b>	ja	ja	ja	ja	ja
<b>Plasmapheresesitzungen (n)</b>	8	4	9	7	3
<b>Dauer der Nierenersatztherapie (Tage)</b>	17	22	-	18	18
<b>Eculizumab</b>	nein	ja	ja	ja	nein
<b>Anzahl der Immunadsorptionssitzungen</b>	2	2	2	2	2
<b>Anzahl der zusätzlichen Immunadsorptionen</b>	4	6	-	1	1
<b>Hydrokortison</b>	ja	ja	ja	nein	ja

**Tab. 1.3: Auszug aus dem Anhang für Chemokine aus Janeway Immunologie [16]**

Chemokin	häufige Bezeichnung	Chromosomen	Zielzellen	spezifischer Rezeptor
<b>CCL2</b>	MCP-1	17	T-Zellen ( $T_H2 > T_H1$ ), Monozyten, Basophile, unreife dendritische Zellen und NK-Zellen	CCR2
<b>CCL 5</b>	RANTES	17	Monozyten, Makrophagen, T-Zellen (T-Gedächtniszellen > T-Zellen; $T_H1 > T_H2$ ), NK-Zellen, basophile, eosinophile, Zellen, unreife dendritische Zellen, B-Zellen	CCR 1, 3 und 5
<b>CXCL 8</b>	IL-8	4	neutrophile, basophile Zellen, CD8-T-Zell-Untergruppen, Endothelzellen	CXCR1 und CXCR2
<b>CXCL 9</b>	MIG	4	aktivierte T-Zellen ( $T_H1 > T_H2$ ), NK-Zellen, Endothelzellen, plasmacytoide dendritische Zellen	CXCR3 A und B
<b>CXCL 10</b>	IP-10	4	aktivierte T-Zellen ( $T_H1 > T_H2$ ), NK-Zellen und Endothelzellen	CXCR3 A und B

**Tab. 1.4: Auszug aus dem Anhang für Zytokine aus Janeway Immunologie [16]**

Familie	Zytokin (alternative Bezeichnung)	Größe (Anzahl der Aminosäuren) und Form	Rezeptoren (c steht für gemeinsame Unter-einheit)	produzierende Zellen	Wirkungen	Effekt des Zytokin- oder Rezeptor-Knockouts (soweit bekannt)
<b>Interleukine</b>	IL-6 (IFN- $\beta_2$ , BSF-2, BCDF)	184, Monomer	CD 126, CD130	T-Zellen, Makrophagen, Endothelzellen	Wachstum und Differenzierung von T- und B-Zellen, Produktion von Akut-Phase-Proteinen, Fieber	IL-6: verminderte Immunantwort der akuten Phase; erniedrigte IgA-Produktion
	IL-10 (cytokine synthesis inhibitory factor)	160, Homodimer	IL-10R $\alpha$ , IL-10R $\beta$ c (CFR2-4, IL-10R2)	Monozyten	wirksamer Inhibitor von Makrophagenfunktionen	IL-10 und IL20R $\beta$ c: vermindertes Wachstum, Anämie, chronische Enterocolitis
	IL-17A (mCTLA-8)	150, Homodimer	IL-17AR (CD217)	T <sub>H</sub> 17-, CD8-T-Zellen, NK-Zellen, $\gamma$ : $\delta$ -T-Zellen	induziert Zytokinproduktion bei Epithelien, Endothelien und Fibroblasten, entzündungsfördernd	IL-17R: verringerte Wanderung der neutrophilen Zellen zu Infektionsherden
	IL-17F (ML-1)	134, Homodimer	IL-17AR (CD217)			
<b>TNF-Familie</b>	TNF- $\alpha$ (Cachectin)	157, Trimere	p55 (CD120a) p75 (CD120b)	Makrophagen, NK-Zellen, T-Zellen	fördert Entzündungen, Endothelaktivierung	p55: Resistenz gegen septischen Schock, Anfälligkeit für Listeria, STNFR $\alpha$ R: periodische Fieberanfälle

**Tab. 3.1: Übersicht der neuropsychologischen Testbatterie**

Testverfahren	Subtest	Parameter	Untersuchung 1		standardisierte Testwerte  (T-Wert: M=50, SD = 10; Prozentrang: nicht lineare Transformation von Normwerten; Range 0-100)	
			Rohwert  nicht standardisierte Testwerte	Normwert		
				T		PR
<b>NeuroCogFX</b>  NeuroCogFX: computergestütztes neuropsychologisches Screeningverfahren zur Erfassung von Kurzzeitgedächtnis (Ziffernspanne), Arbeitsgedächtnis (TwoBack-Test), psychomotorischer Geschwindigkeit (einf. Reakt.), selektiver Aufmerksamkeit (GoNogo), verbalem und figuralem Gedächtnis sowie Wortflüssigkeit	<b>Ziffernspanne</b>	Spanne	Anzahl an Ziffern, die korrekt wiedergegeben werden können			
		<b>Summe</b>	korrekt gelöste Items der Aufgabe			
	<b>Two-back-Test</b>	<b>Summe/Fehler</b>	Arbeitsgedächtnis; Anzahl der Fehler sowie korrekte Items			
	<b>einf. Reaktion</b>	<b>RZ Md</b>	Reaktionszeit Median			
	<b>Go/NoGo</b>	<b>RZ Md</b>				
		Richtige/Fehler				
	<b>Inv. Go/NoGo</b>	<b>RZ Md</b>				
		Richtige/Fehler				
	<b>Verbalged.</b>	R/FP DG 1	Richtige/Falsch positive Durchgang 1			
		R/FP DG 2				
		R/FP DG 3				
		R/FP Delayed	Richtige/Falsch positive Nennungen verzögerter Abruf			
		<b>Summe R/FP</b>				
	<b>Figuralged.</b>	R/FP DG 1				
		R/FP DG 2				
		R/FP DG 3				
		R/FP Delayed				
		<b>Summe R/FP</b>				
	<b>Wortflüssigkeit</b>	<b>Summe</b>	Anzahl korrekt genannter Wörter abzüglich Fehler			
<b>MWT-B</b>		<b>Richtige</b>	Mehrfachwahlwortschatzintelligenztest zur groben Erfassung des (präorbiden) kogn.			

			Niveaus; Anzahl der richtigen Lösungen
<b>LPS</b>	<b>UT 3</b>	<b>Richtige</b>	Leistungsprüfsystem Untertest zum logisch-schlussfolgerndem Denken; Anzahl der richtigen Lösungen; genutzt als Pendant zum MWT-B für nonverbales prämorbidem allg. kogn. Niveau
<b>TMT</b>	<b>A</b>	<b>Zeit (s)</b>	Trail Making Test: visuo-räumliche Explorationsgeschwindigkeit; relevant ist Zeit für Bearbeitung
		Fehler	
	<b>B</b>	<b>Zeit (s)</b>	wie TMT A plus Flexibilitätsanforderung
		Fehler	
<b>VAT</b>	<b>Lange Version</b>	<b>Richtige</b>	Visueller Assoziationstest: einfaches, nonverbales Gedächtnisverfahren
<b>FWIT</b>		<b>FWL Zeit Md</b>	Farb-Wort-Interferenztest (Stroop): Farbwortlesen, Farbstrichbenennen und Interferenzbedingung, 3 Durchgänge jeweils, ausgewertet wird Median der jeweiligen Reaktionszeiten
		<b>FSB Zeit Md</b>	
		<b>INT Zeit Md</b>	
<b>RWT</b>	<b>1' !!</b>	<b>P/K-Wörter</b>	Regensburger Wortflüssigkeitstest: innerhalb einer Minute Wörter mit jew. Anfangsbuchstaben (P o. K), im Wechsel mit zwei verschiedenen Anfangsbuchstaben (G/R o. H/T) und semantisch (Tiere) nennen; ausgewertet werden Summe richtiger Antworten
		<b>H-T/G-R-W.</b>	
		<b>Tiere</b>	
<b>AAT</b>	<b>TT</b>	Fehler	Aachener Aphasie Test; Untertest Token Test; Anzahl der Fehler
<b>LPS</b>	<b>UT 8</b>	<b>Richtige</b>	Leistungsprüfsystem Untertest 8, räumliche Wahrnehmung/mentale Rotation
<b>BDI-II</b>		<b>Summe</b>	Becks-Depressions-Inventar: 21 Items zur Erfassung depressiver Symptome
<b>STAI</b>		<b>Summe Trait</b>	State-Trait-Angst-Inventar: Fragebogen zur Erfassung angstbezogener Symptome
		Summe State	

*Überblick über die durchgeführte neuropsychologische Testbatterie mit kurzer Erläuterung der einzelnen Tests und den jeweiligen Einheiten.*



**Tab. 4.9: Während der Plasmapherese-Therapie gemessenen Einzelwerte der pro- und antiinflammatorischen Zytokine**

<b>Patient 1484</b>									
<b>sTNFR1 [pg/ml]</b>		<b>IL-6 [pg/ml]</b>		<b>IL-10 [pg/ml]</b>		<b>MMP9 [ng/ml]</b>		<b>CCL5/Human Rantes [pg/ml]</b>	
<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>
4731,31	2490,21	3,60	3,38	3,63	4,27	499,44	683,78	3285,11	3407,91
7582,54	2619,09	7,75	2,69	6,45	36,81	622,11	930,11	3668,45	2813,37
7495,34	4225,33	6,56	6,51	3,75	5,11	162,67	1236,11	2524,03	1982,17
7851,75	3821,34	18,24	18,92	3,99	3,81	1210,11	1005,11	2904,27	3138,19
<b>Patient 1486</b>									
<b>sTNFR1 [pg/ml]</b>		<b>IL-6 [pg/ml]</b>		<b>IL-10 [pg/ml]</b>		<b>MMP9 [ng/ml]</b>		<b>CCL5/Human Rantes [pg/ml]</b>	
<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>	<b>vor PS</b>	<b>nach PS</b>
4182,67	2755,87	18,24	24,31	3,99	7,25	1286,89	212,22	2944,14	4672,86
7077,43	3299,31	11,14	14,17	3,24	2,93	652,33	401,33	4216,02	3345,91
		8,87	7,57	2,83	7,07	1137,11	1135,44	6210,74	5808,72

**Tab. 4.11: Unter Immunadsorption gemessene Einzelwerte der pro- und antiinflammatorischen Zytokine**

<b>sTNFR1 [pg/ml]</b>	<b>vor 1. IA</b>	<b>nach 1. IA</b>	<b>vor 2. IA</b>	<b>nach 2. IA</b>
Patient No. 1	17435,59	18130,91	15080,96	13991,93
Patient No. 2	21352,23	11490,21		
Patient No. 3	3164,05	5128,84		
Patient No. 4	6694,01	11585,98	8208,44	7678,3
<b>IL-6 [pg/ml]</b>				
Patient No. 1	17610,71	1202,5	49,79	32,22
Patient No. 2	40,18	1223,87		
Patient No. 3	748,86	31,73		
Patient No. 4	79,44	21,49	614,4	3,03
<b>IL-10 [pg/ml]</b>				
Patient No. 1	12,92	4,24	6,54	4,82
Patient No. 2	7,52	6,43		
Patient No. 3	31,03	9,62		
Patient No. 4	10,17	5,83	8,1	4,4
<b>IL-17a [pg/ml]</b>				
Patient No. 1	3,04	2,41		
Patient No. 2				
Patient No. 3				
Patient No. 4	1,73	1,34		
<b>MMP9 [ng/ml]</b>				
Patient No. 1	18768,06	26487,78	25975,08	20579,49
Patient No. 2	37203,36	25932,45		
Patient No. 3	33626,93	44023,77		
Patient No. 4	9525,79	16647,4	29232,63	22599,37
<b>CCL5/Human Rantes [pg/ml]</b>				
Patient No. 1	18768,06	26487,78	25975,08	20579,49
Patient No. 2	37203,36	25932,45		
Patient No. 3	33626,93	44023,77		
Patient No. 4	9525,79	16647,4	29232,63	22599,37

**Tab. 4.14: Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 1**

Testverfahren	Subtest	Parameter	Untersuchung 1			Untersuchung 2		
			Rohwert	Normwert		Rohwert	Normwert	
				T	PR		T	PR
<b>NeuroCogFX</b>	<b>Ziffernspanne</b>	Spanne	4			6		
		<b>Summe</b>	<b>4</b>		<b>20</b>	<b>7</b>		<b>60</b>
	<b>Two-back-Test</b>	<b>Summe/Fehler</b>	<b>7/2</b>		<b>30</b>	<b>10/0</b>		<b>99</b>
	<b>einf. Reaktion</b>	<b>RZ Md</b>	<b>195</b>		<b>100</b>	<b>219</b>		<b>100</b>
	<b>Go/NoGo</b>	<b>RZ Md</b>	<b>438</b>		<b>40</b>	<b>445</b>		<b>30</b>
		Richtige/Fehler	9/1			8/2		
	<b>Inv. Go/NoGo</b>	<b>RZ Md</b>	<b>468</b>		<b>20</b>	<b>344</b>		<b>90</b>
		Richtige/Fehler	9/0			10/0		
	<b>Verbalged.</b>	R/FP DG 1	8/0			6/1		
		R/FP DG 2	12/1			12/1		
		R/FP DG 3	12/1			12/0		
		R/FP Delayed	9/0			12/3		
		<b>Summe R/FP</b>	<b>41/2</b>		<b>70</b>	<b>42/5</b>		<b>70</b>
	<b>Figuralged.</b>	R/FP DG 1	3/1			2/5		
		R/FP DG 2	1/2			4/5		
		R/FP DG 3	3/2			6/4		
		R/FP Delayed	2/3			4/4		
		<b>Summe R/FP</b>	<b>9/8</b>		<b>30</b>	<b>16/18</b>		<b>40</b>
<b>MWT-B</b>		<b>Richtige</b>	<b>31</b>		<b>81</b>	<b>32</b>		<b>89</b>
<b>LPS</b>	<b>UT 3</b>	<b>Richtige</b>	<b>16</b>	<b>45</b>		<b>22</b>	<b>55</b>	
<b>TMT</b>	<b>A</b>	<b>Zeit (s)</b>	<b>39</b>	<b>51</b>	<b>54</b>	<b>23</b>	<b>74</b>	<b>99</b>
		Fehler	0			0		
	<b>B</b>	<b>Zeit (s)</b>	<b>67</b>	<b>63</b>	<b>90</b>	<b>61</b>	<b>66</b>	<b>95</b>
		Fehler	0			1		
<b>VAT</b>	<b>Lange Version</b>	<b>Richtige</b>	--			<b>24</b>		<b>(≥ 70)</b>
<b>FWIT</b>		<b>FWL Zeit Md</b>	<b>23</b>	<b>67</b>		<b>27</b>	<b>58</b>	
		<b>FSB Zeit Md</b>	<b>46</b>	<b>53</b>		<b>38</b>	<b>64</b>	
		<b>INT Zeit Md</b>	<b>60</b>	<b>63</b>		<b>68</b>	<b>58</b>	
<b>RWT</b>	<b>1' !!</b>	<b>P/K-Wörter</b>	<b>18</b>		<b>90</b>	<b>19</b>		<b>88</b>
		<b>H-T/G-R-W.</b>	<b>23</b>		<b>&gt;99</b>	<b>19</b>		<b>90</b>
		<b>Tiere</b>	<b>30</b>		<b>97</b>	<b>25</b>		<b>84</b>
<b>AAT</b>	<b>TT</b>	Fehler	3			0		
<b>LPS</b>	<b>UT 8</b>	<b>Richtige</b>	<b>16</b>	<b>55</b>		<b>16</b>	<b>55</b>	
<b>BDI-II</b>		<b>Summe</b>	<b>11</b>		<b>80</b>	<b>9</b>		<b>70</b>
<b>STAI</b>		<b>Summe Trait</b>	<b>43</b>	<b>53</b>	<b>63</b>	<b>37</b>	<b>48</b>	<b>43</b>
		Summe State	50			30		

**Tab. 4.15: Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 2**

Testverfahren	Subtest	Parameter	Untersuchung 1			Untersuchung 2		
			Rohwert	Normwert		Rohwert	Normwert	
				T	PR		T	PR
NeuroCogFX	Ziffernspanne	Spanne				6		
		Summe				8		60
	Two-back-Test	Summe/Fehler				8/0		30
		einf. Reaktion	RZ Md				282	
	Go/NoGo	RZ Md				391		20
		Richtige/Fehler				9/1		
	Inv. Go/NoGo	RZ Md				367		50
		Richtige/Fehler				10/0		
	Verbalged.	R/FP DG 1				11/1		
		R/FP DG 2				12/0		
		R/FP DG 3				12/1		
		R/FP Delayed				12/2		
		Summe R/FP				47/4		70
	Figuralged.	R/FP DG 1				5/0		
		R/FP DG 2				5/3		
		R/FP DG 3				7/4		
		R/FP Delayed				6/4		
		Summe R/FP				23/11		70
	MWT-B		Richtige				31	
LPS	UT 3	Richtige				30	60	
TMT	A	Zeit (s)				24		46
		Fehler				0		
	B	Zeit (s)				47		50
		Fehler				0		
VAT	Lange Version	Richtige				23		62
FWIT		FWL Zeit Md				23	67	
		FSB Zeit Md				33	72	
		INT Zeit Md				52	69	
RWT		K-Wörter				27		67
		G-/R-Wörter				25		71
		Tiere				32		31
AAT	TT	Fehler				0		
LPS	UT 8	Richtige				35	60	
BDI-II		Summe				1		20
STAI		Summe Trait				28	41	20
		Summe State				33		

**Tab. 4.16: Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 3**

Testverfahren	Subtest	Parameter	Untersuchung 1			Untersuchung 2			
			Rohwert	Normwert		Rohwert	Normwert		
				T	PR		T	PR	
NeuroCogFX	Ziffernspanne	Spanne				5			
		Summe				5		30	
	Two-back-Test	Summe/Fehler				9		80	
		einf. Reaktion	RZ Md				297		60
	Go/NoGo	RZ Md				406		50	
		Richtige/Fehler				9/0			
	Inv. Go/NoGo	RZ Md				406		60	
		Richtige/Fehler				9/0			
	Verbalged.		R/FP DG 1				6/1		
			R/FP DG 2				11/0		
			R/FP DG 3				12/0		
			R/FP Delayed				11/1		
			Summe R/FP				40/2		60
	Figuralged.		R/FP DG 1				4/1		
			R/FP DG 2				5/0		
			R/FP DG 3				5/0		
			R/FP Delayed				5/0		
			Summe R/FP				19/1		90
	MWT-B		Richtige				34		98
	LPS	UT 3	Richtige				37	>70	
TMT	A	Zeit (s)				27	49	46	
		Fehler				0			
	B	Zeit (s)				47	52	58	
		Fehler				0			
VAT	Lange Version	Richtige				24		≥70	
FWIT		FWL Zeit Md				22	70		
		FSB Zeit Md				33	72		
		INT Zeit Md				64	60		
RWT		K-Wörter				25	61		
		G-/R-Wörter				24	61		
		Tiere				48	89		
AAT	TT	Fehler				0			
LPS	UT 8	Richtige				40	>70		
BDI-II		Summe				3		30	
STAI		Summe Trait				21	29	2	
		Summe State				24			

**Tab. 4.17: Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 4**

Testverfahren	Subtest	Parameter	Untersuchung 1			Untersuchung 2		
			Rohwert	Normwert		Rohwert	Normwert	
				T	PR		T	PR
<b>NeuroCogFX</b>	<b>Ziffernspanne</b>	Spanne	7			8		
		<b>Summe</b>	<b>9</b>		<b>80</b>	<b>11</b>		<b>90</b>
	<b>Two-back-Test</b>	<b>Summe/Fehler</b>	<b>6/0</b>		<b>16</b>	<b>9/0</b>		<b>50</b>
	<b>einf. Reaktion</b>	<b>RZ Md</b>	<b>265</b>		<b>50</b>	<b>218</b>		<b>90</b>
	<b>Go/NoGo</b>	<b>RZ Md</b>	<b>383</b>		<b>20</b>	<b>313</b>		<b>80</b>
		Richtige/Fehler	10/1			10/0		
	<b>Inv. Go/NoGo</b>	<b>RZ Md</b>	<b>422</b>		<b>16</b>	<b>304</b>		<b>90</b>
		Richtige/Fehler	9/1			10/0		
	<b>Verbalged.</b>	R/FP DG 1	12/1			10/1		
		R/FP DG 2	9/0			11/0		
		R/FP DG 3	11/0			12/0		
		R/FP Delayed	12/1			12/0		
		<b>Summe R/FP</b>	<b>44/2</b>		<b>60</b>	<b>45/1</b>		<b>70</b>
	<b>Figuralged.</b>	R/FP DG 1	7/4			5/3		
		R/FP DG 2	7/4			7/1		
		R/FP DG 3	6/2			6/0		
		R/FP Delayed	6/5			6/1		
		<b>Summe R/FP</b>	<b>26/15</b>		<b>70</b>	<b>24/5</b>		<b>90</b>
<b>MWT-B</b>		<b>Richtige</b>	<b>31</b>		<b>81</b>	<b>33</b>		<b>94</b>
<b>LPS</b>	<b>UT 3</b>	<b>Richtige</b>	<b>25</b>	<b>55</b>		<b>---</b>		<b>---</b>
<b>TMT</b>	<b>A</b>	<b>Zeit (s)</b>	<b>24</b>		<b>76</b>	<b>20</b>		<b>90</b>
		Fehler	0			0		
	<b>B</b>	<b>Zeit (s)</b>	<b>54</b>		<b>82</b>	<b>43</b>		<b>93</b>
		Fehler	0			0		
<b>VAT</b>	<b>Lange Version</b>	<b>Richtige</b>	<b>24</b>		<b>≥70</b>	<b>24</b>		<b>≥70</b>
<b>FWIT</b>		<b>FWL Zeit Md</b>	<b>32</b>	<b>47</b>		<b>25</b>	<b>61</b>	
		<b>FSB Zeit Md</b>	<b>41</b>	<b>59</b>		<b>31</b>	<b>76</b>	
		<b>INT Zeit Md</b>	<b>72</b>	<b>55</b>		<b>52</b>	<b>68</b>	
<b>RWT</b>	<b>1' !!</b>	<b>L/K-Wörter</b>	<b>11</b>		<b>30</b>	<b>23</b>		<b>98</b>
		<b>H-T/G-R-W.</b>	<b>19</b>		<b>83</b>	<b>19</b>		<b>95</b>
		<b>Tiere</b>	<b>---</b>			<b>24</b>		<b>58</b>
<b>AAT</b>	<b>TT</b>	Fehler	0			0		
<b>LPS</b>	<b>UT 8</b>	<b>Richtige</b>	<b>13</b>	<b>50</b>		<b>39</b>	<b>65</b>	
<b>BDI-II</b>		<b>Summe</b>	<b>12</b>		<b>80</b>	<b>2</b>		<b>25</b>
<b>STAI</b>		<b>Summe Trait</b>	<b>35</b>	<b>49</b>		<b>23</b>	<b>32</b>	
		<b>Summe State</b>	<b>43</b>			<b>28</b>		

**Tab. 4.18: Roh- und Normwerte der neuropsychologischen Untersuchung von Patient No. 6**

Testverfahren	Subtest	Parameter	Untersuchung 1			Untersuchung 2		
			Rohwert	Normwert		Rohwert	Normwert	
				T	PR		T	PR
NeuroCogFX	Ziffernspanne	Spanne	--			4		
		Summe	--			3		3
	Two-back-Test	Summe/Fehler	--			--		
	einf. Reaktion	RZ Md	--			297		60
	Go/NoGo	RZ Md	--			438		40
		Richtige/Fehler	--			9/2		
	Inv. Go/NoGo	RZ Md	--			--		
		Richtige/Fehler	--			--		
	Verbalged.	R/FP DG 1	--			9/1		
		R/FP DG 2	--			10/1		
		R/FP DG 3	--			11/3		
		R/FP Delayed	--			8/1		
		Summe R/FP	--			38/6		40
	Figuralged.	R/FP DG 1	--			6/7		
		R/FP DG 2	--			5/4		
		R/FP DG 3	--			6/5		
		R/FP Delayed	--			2/7		
		Summe R/FP	--			19/23		40
MWT-B		Richtige	15		12	27		49
LPS	UT 3	Richtige	--			--		
TMT	A	Zeit (s)	70	35	7	83	32	4
		Fehler	1			0		
	B	Zeit (s)	293		0	168	37	10
		Fehler	1			1		
VAT	Lange Version	Richtige	20		(25)	20		(25)
FWIT		FWL Zeit Md	--			--		
		FSB Zeit Md	--			--		
		INT Zeit Md	--			--		
RWT		K-Wörter	--			7		5
		G-/R-Wörter	--			6		4
		Tiere	--			20		28
AAT	TT	Fehler	--			1		
LPS	UT 8	Richtige	--			--		
BDI-II		Summe	--			--		
STAI		Summe Trait	--			--		
		Summe State	--			--		

**MDRD-Formel** [136]:

$$eGFR = 186 \times \text{Serumkreatinin}^{-1,154} \times \text{Alter}^{-0,203}$$

**Berechnung Proteinurie** [12]:

$$U\text{-Protein [mg/dl]}/Kreatinin [mg/dl]*1000$$

## 8. Literaturverzeichnis

- [1] Robert-Koch-Institut. Bericht: Abschließende Darstellung und Bewertung der epidemiologischen Erkenntnisse im EHEC O104:H4 Ausbruch, Berlin, Deutschland 2011.
- [2] S. Dundas, W. T. Todd, A. I. Stewart, P. S. Murdoch, A. K. Chaudhuri, S. J. Hutchinson, "The central Scotland Escherichia coli O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients." *Clin Infect Dis* 33(7):923-31, 2001.
- [3] S. Suerbaum, H. Hahn, G.-D. Burchard, S. Kaufmann, T. F. Schulz, *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, 7. Auflage, Springer-Verlag. Berlin/Heidelberg, Deutschland 2012.
- [4] N. A. Campbell, J. B. Reece, *Biologie*, 8. Auflage, PEARSON Studium. München, Deutschland 2009.
- [5] H. Hof, R. Dörries, *Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Deutschland 2014.
- [6] M. Shimizu, "Pathogenic functions and diagnostic utility of cytokines/chemokines in EHEC-HUS" *Pediatrics International*, 62:308-315, 2020.
- [7] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: "Stellungnahme der ZKBS zu gentechnischen Arbeiten mit enterohämorrhagischen E. coli-Stämmen (EHEC)" Braunschweig, Deutschland 2009.
- [8] J. P. Albersmeier, J. P. Bremer, W. Dammermann, S. Lüth, F. Hagenmüller, C. Rüter, H. Otto, A. M. Nielsen, U. Schumacher, S. Ullrich, "Outcome and clinical course of EHEC O104 infection in hospitalized patients: A prospective single center study" *PLoS One* 13(2):e0191544, 2018.
- [9] H. Karch, "EHEC O104:H4 und die Folgen", *Biospektrum*, Springer-Verlag. Deutschland 2011.
- [10] M. Bielaszewska, A. Mellmann, W. Zhang, R. Köck, A. Fruth, A. Bauwens, G. Peters, H. Karch, "Characterisation of the Escherichia coli strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study." *Lancet Infect Dis* 11:671-76, 2011.



- [11] J. Menne, J. T. Kielstein, U. Wenzel, R. A. K. Stahl, "Therapie des hämolytisch-urämischen Syndroms." *Der Internist* 53:1420-30, Springer-Verlag. Berlin/Heidelberg, Deutschland 2012.
- [12] U. Kuhlmann, D. Walb, J. Böhler, F. C. Luft, *Nephrologie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Deutschland 2009.
- [13] J. Rassow, K. Hauser, R. Netzker, R. Deutzmann, *Duale Reihe Biochemie*, 2. Auflage, Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Deutschland 2008.
- [14] Nationales Konsiliarlaboratorium für HUS: *Pathogenese*. URL: <https://campus.uni-muenster.de/hygiene/konsiliarlaboratorium-hus/pathogenese/> (Stand 14.08.2020)
- [15] W. F. Caspary, M. Kist, J. Stein, *Infektionen des Gastrointestinaltraktes*, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, Deutschland 2006.
- [16] K. M. Murphy, C. Weaver, *Janeway Immunologie*, 9. Auflage, Springer Spektrum, Springer-Verlag. Berlin/Heidelberg, Deutschland 2018.
- [17] E. Brzuszkiewicz, A. Thürmer, J. Schuldts, A. Leimbach, H. Liesegang, F. D. Meyer, J. Boelter, H. Petersen, G. Gottschalk, R. Daniel, "Genome sequence analyses of two isolates from the recent Escherichia coli outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Entero-Aggregative-Haemorrhagic Escherichia coli (EAHEC)." *Arch Microbiol* 193(12):883-91, 2011.
- [18] P. Kaminsky, "Unbekannt: der Aufenthaltsort des Erregers" *Ärzte Zeitung*, Nr. 86, S. 15/Gesundheitspolitik, 2016.
- [19] T. Magnus, J. Röther, O. Simova, M. Meier-Cillien, J. Repenthin, F. Möller, J. Gbadamosi, U. Panzer, M. Wengenroth, C. Hagel, S. Kluge, R. K. Stahl, K. Wegscheider, P. Urban, B. Eckert, M. Glatzel, J. Fiehler, C. Gerloff, "The neurological syndrome in adults during the 2011 northern German E. coli serotype O104:H4 outbreak" *Brain*, 135(Pt 6):1850-9, 2012.
- [20] C. Dücker, P. Dautel, K. Wagner, J. Przewozna, S. Oehlerking, J. Repenthin, R. Brüning, T. N. Meyer, S. Faiss, "Klinische Symptomatik, Therapie und Verlauf stationär behandelter EHEC/EHEC-HUS Patienten" *Dtsch Med Wochenschr*, 136:1770-76, 2011.

- [21] C. Frank, D. Werber, J. P. Cramer, M. Askar, M. Faber, M. an der Heiden, H. Bernard, A. Fruth, R. Prager, A. Spode, M. Wadl, A. Zoufaly, S. Jordan, M. J. Kemper, P. Follin, L. Müller, L. A. King, B. Rosner, U. Buchholz, K. Stark, G. Krause, "Epidemic Profile of Shiga-Toxin-Producing *Escherichia coli* O104:H4 Outbreak in Germany" *N Engl J Med*, 365:1771-80, 2011.
- [22] A. Greinacher, S. Friesecke, P. Abel, A. Dressel, S. Stracke, M. Fiene, F. Ernst, K. Selleng, K. Weissenborn, B. M. W. Schmidt, M. Schiffer, S. B. Felix, M. M. Lerch, J. T. Kielstein, J. Mayerle, "Treatment of severe neurological deficits with IgG depletion through immunadsorption in patients with *Escherichia coli* O104:H4-associated haemolytic uraemic syndrome: a prospective trial" *Lancet*, 378:1166-73, 2011.
- [23] Nationales Konsiliarlaboratorium für HUS: *Diagnostik von EHEC-Erkrankungen*. URL: <https://campus.uni-muenster.de/hygiene/konsiliarlaboratorium-hus/diagnostik-von-ehec-erkrankungen/> (Stand 21.09.2020)
- [24] J. Menne, M. Nitschke, R. Stinglele, M. Abu-Tair, J. Beneke, J. Bramstedt, J. P. Bremer, R. Brunkhorst, V. Busch, R. Dengler, G. Deuschl, K. Fellermann, H. Fickenscher, C. Gerigk, A. Goettsche, J. Greeve, C. Hafer, F. Hagenmüller, H. Haller, S. Herget-Rosenthal, B. Hertenstein, C. Hofmann, M. Lang, J. T. Kielstein, U. C. Klostermeier, J. Knobloch, M. Kuehbacher, U. Kunzendorf, H. Lehnert, M. P. Manns, T. F. Menne, T. N. Meyer, C. Michael, T. Münte, C. Neumann-Grutzeck, J. Nuernberger, H. Pavenstaedt, L. Ramazan, L. Renders, J. Repenthin, W. Ries, A. Rohr, L. C. Rump, O. Samuelsson, F. Sayk, B. M. Schmidt, S. Schnatter, H. Schöcklmann, S. Schreiber, C. U. von Seydewitz, J. Steinhoff, S. Stracke, S. Suerbaum, A. van de Loo, M. Vishedyk, K. Weissenborn, P. Wellhöner, M. Wiesner, S. Zeissig, J. Büning, M. Schiffer, T. Kuehbacher, "Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study" *BMJ*, 345:e4565, 2012.
- [25] P. N. Goldwater, K. A. Bettleheim, "Treatment of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection and hemolytic uremic syndrome (HUS)" *BMC Med* 10:12, 2012.
- [26] Fachinformation Soliris von Alexion Europe SAS: *Eculizumab*. (Stand 05.2020)

- [27] L. B. Zimmerhackl, H. Verweyen, A. Gerber, H. Karch, M. Brandis, "Das hämolytisch-urämische Syndrom" *Dtsch Arztebl*, 99(4):A-196-203, 2002.
- [28] V. Stangl, A. Staudt, W. Dörffel, G. Wallukat, K. Stangl, G. Baumann, S. B. Felix, "Immunadsorption: Eine neue intensivmedizinische Methode zur Rekompensation von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie und Herzinsuffizienz" *Intensivmed* 37:139-45, 2000.
- [29] E. Morgan, R. Varro, H. Sepulveda, J. A. Ember, J. Apgar, J. Wilson, L. Lowe, R. Chen, L. Shivraj, A. Agadir, R. Campos, D. Ernst, A. Gaur, "Cytometric bead array: a multiplexed assay platform with applications in various areas of biology" *Clin Immunol*, 110(3):252-66, 2004.
- [30] BD Cytometric Bead Array (CBA): Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit und Human Chemokine Kit; Instruction Manual.
- [31] M. Shimizu, M. Kuroda, N. Sakashita, M. Konishi, H. Kaneda, N. Igarashi, J. Yamahana, H. Taneichi, H. Kanegane, M. Ito, S. Saito, K. Ohta, T. Taniguchi, K. Furuichi, T. Wada, M. Nakagawa, H. Yokoyama, A. Yachi, "Cytokine profiles of patients with enterohemorrhagic Escherichia coli O111-induced hemolytic-uremic syndrome" *Cytokine*, 60:696-700, 2012.
- [32] M. Shiraishi, T. Ichiyama, T. Matsushige, T. Iwaki, K. Iyoda, K. Fukuda, H. Makata, T. Matsubara, S. Furukawa, "Soluble tumour necrosis factor receptor 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hemolytic uremic syndrome with encephalopathy" *Neuroimmunol*, 196:147-52, 2008.
- [33] S. Chakraborti, M. Mandal, S. Das, A. Mandal, T. Chakraborti, "Regulation of matrix metalloproteinases: an overview" *Mol Cell Biochem*, 253:269-85, 2003.
- [34] G. Murphy, "Tissue inhibitors of metalloproteinases" *Genome Biology*, 12:233, 2011.
- [35] P. B. Eisenhauer, M. S. Jacewicz, K. J. Conn, O. Koul, J. M. Wells, R. E. Fine, D. S. Newburg, "Escherichia coli Shiga toxin 1 and TNF-alpha induce cytokine release by human cerebral microvascular endothelial cells". *Microb Pathog*, 36:189-96, 2004.
- [36] E. Kita, Y. Yunou, T. Kurioka, H. Harada, S. Yoshikawa, K. Mikasa, N. Higashi, "Pathogenic mechanism of mouse brain damage caused by oral infection with Shiga toxin-producing Escherichia coli O157:H7" *Infect Immun*, 68:1207-14, 2000.

- [37] K. Takahashi, N. Funata, F. Ikuta, S. Sato, "Neuronal apoptosis and inflammatory responses in the central nervous system of a rabbit treated with Shiga toxin-2" *Neuroinflammation* 21:5-11, 2008.
- [38] J. F. Bale Jr., C. Brasher, R. L. Siegler, "CNS manifestations of the hemolytic-uremic syndrome. Relationship to metabolic alterations and prognosis" *Am J Dis Child* 134(9):869-72, 1980.
- [39] N. Cimolai, B. J. Morrison, J. E. Carter, "Risk factors for the central nervous system manifestations of gastroenteritis-associated hemolytic-uremic syndrome" *Pediatrics* 90(4):616-21, 1992.
- [40] J. S. Hahn, P. L. Havens, J. J. Higgins, P. P. O'Rourke, J. A. Estroff, R. Strand, "Neurological complications of hemolytic-uremic syndrome" *J Child Neurol*, 4(2):108-13, 1989.
- [41] K. J. Sheth, H. M. Swick, N. Haworth, "Neurological involvement in hemolytic-uremic syndrome" *Ann Neurol* 19(1):90-3, 1986.
- [42] F. Scheutz, E. M. Nielsen, J. Frimodt-Møller, N. Boisen, S. Morabito, R. Tozzoli, J. P. Nataro, A. Caprioli, "Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011" *Euro Surveill* 16(24):19889, 2011.
- [43] S. Nathanson, T. Kwon, M. Elmaleh, M. Charbit, E. A. Launay, J. Harambat, M. Brun, B. Ranchin, F. Bandin, S. Cloarec, G. Bourdat-Michel, C. Piètrement, G. Champion, T. Ulinski, G. Deschênes, "Acute neurological involvement in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome" *Clin J Am Soc Nephrol* 5(7):1218-28, 2010.
- [44] M. Steinborn, S. Leiz, K. Rüdissler, M. Griebel, T. Harder, H. Hahn, "CT and MRI in haemolytic uraemic syndrome with central nervous system involvement: distribution of lesions and prognostic value of imaging findings" *Pediatr Radiol* 34(10):805-10, 2004.
- [45] K. Weissenborn, F. Donnerstag, J. T. Kielstein, M. Heeren, H. Worthmann, H. Hecker, R. Schmitt, M. Schiffer, T. Pasedag, R. Schuppner, A. B. Tryc, P. Raab, H. Hartmann, X. Q. Ding, C. Hafer, J. Menne, B. M. W. Schmidt, E. Bültemann, H. Haller, R. Dengler, H. Lanfermann, A. M. Giesemann, "Neurologic manifestations of *E. coli* infection induced hemolytic-uremic syndrome in adults" *Neurology*, 79:1466-73, 2012.

- [46] J. T. Kielstein, G. Beutel, S. Fleig, J. Steinhoff, T. N. Meyer, C. Hafer, U. Kuhlmann, J. Bramstedt, U. Panzer, M. Vischedyk, V. Busch, W. Ries, S. Mitzner, S. Mees, S. Stracke, J. Nürnberger, P. Gerke, M. Wiesner, B. Sucke, M. Abu-Tair, A. Kribben, N. Klause, R. Schindler, F. Merkel, S. Schnatter, E. M. Dorresteijn, O. Samuelsson, R. Brunkhorst, "Best supportive care and therapeutic plasma exchange with or without eculizumab in Shiga-toxin-producing E. coli O104:H4 induced haemolytic-uraemic syndrome: an analysis of the German STEC-HUS registry" *Nephrol Dial Transplant*, 27(10):3807-15, 2012.
- [47] C. Combe, H-N. Bui, V. de Précigout, G. Hilbert, Y. Delmas, „Immunadsorption in patients with haemolytic uraemic syndrome" *Lancet* 379:517-518 (Autorenantwort 518-519), 2011.
- [48] G. A. Holländer, T. Barthlott, W. Keller, W. Krenger, L. Piali, *Immunologie. Grundlagen für Klinik und Praxis*, 1. Auflage, Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag. München, Deutschland 2006.
- [49] L. Thomas, *Labor und Diagnose Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik*, 7. Auflage, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH. Frankfurt/Main, Deutschland 2008.
- [50] M. Mazer, J. Unsinger, A. Drewry, A. Walton, D. Osborne, T. Blood, R. Hotchkiss, K. E. Remy, "IL-10 has differential Effects on the Innate and Adaptive Immune Systems of Septic Patients" *J Immunol*, 203(8):2088-99, 2019.
- [51] A. Saxena, S. Khosraviani, S. Noel, D. Mohan, T. Donner, A. R. Hamad, "Interleukin-10 paradox: a potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy" *Cytokine*, 74(1):27-34, 2015.
- [52] M. Ferenčík, J. Rovensky, V. Matha, M. Herold, *Kompendium der Immunologie: Grundlagen und Klinik*, Springer Wien New York, Österreich 2006.

- [53] T. A. Russo, J. R. Johnson, "Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC" *J Infect Dis*, 181(5):1753-4, 2000.
- [54] C. Frank, M. S. Faber, M. Askar, H. Bernard, A. Fruth, A. Gilsdorf, M. Hohle, H. Karch, G. Krause, R. Prager, A. Spode, K. Stark, D. Werber, "Large and ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome, Germany, May 2011" *Euro Surveill*, 26;16(21):19878, 2011.
- [55] P. I. Tarr, C. A. Gordon, W. L. Chandler, "Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome" *Lancet* 365(9464):1073-86, 2005.
- [56] H. Karch, P. I. Tarr, M. Bielaszewska, "Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine" *Int J Med Microbiol*, 295:405-18, 2005.
- [57] H. Karch, J. Müthing, U. Dobrindt, A. Mellmann, "Evolution und Infektionsbiologie der mit dem hämolytisch-urämischen Syndrom (HUS) assoziierten *E. coli* (HUSEC)" *Bundesgesundheitsblatt*, 56:8-14, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, Deutschland 2013.
- [58] A. W. Friedrich, M. Bielaszewska, W.-L. Zhang, M. Pulz, T. Kuczius, A. Ammon, H. Karch, "*Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms" *J Infect Dis*, 185(1):74-84, 2002.
- [59] M. Bielaszewska, A. W. Friedrich, T. Aldick, R. Schürk-Bulgrin, H. Karch, "Shiga toxin activatable by intestinal mucus in *Escherichia coli* isolated from humans: predictor for a severe clinical outcome" *Clin Infect Dis*, 43(9):1160-67, 2006.
- [60] A. Mellmann, M. Bielaszewska, R. Köck, A. W. Friedrich, A. Fruth, B. Middendorf, D. Harmsen, M. A. Schmidt, H. Karch, "Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*" *Emerg Infect Dis* 14(8):1287-90, 2008.
- [61] H. Karch, I. J. Bockemühl, H.-I. Huppertz, "Erkrankungen durch enterohämorrhagische *Escherichia coli* (ehc)" *Dt Ärztebl*, 97:A2314-18, Heft 36, 2000.
- [62] E. Strauch, R. Lurz, L. Beutin, "Characterization of a Shiga toxin-encoding temperate bacteriophage of *Shigella sonnei*" *Infect Immun*, 69(12):7588-95, 2001.

- [63] M. A. Chattaway, T. Dallman, I. N. Okeke, J. Wain, "Enteroaggregative *E. coli* O104 from an outbreak of HUS in Germany 2011, could it happen again?" *J Infect Dev Ctries*, 5(6):425-36, 2011.
- [64] A. E. Jerse, J. Yu, B. D. Tall, J. B. Kaper, "A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions on tissue culture cells" *Proc Natl Acad Sci USA*, 87(20):7839-43, 1990.
- [65] M. S. Sonnenberg, S. Tzipori, M. L. McKee, A. D. O'Brien, J. Alroy, J. B. Kaper, "The role of the *eae* gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in intimate attachment in vitro and in a porcine model" *J Clin Invest*, 92(3):1418-24, 1993.
- [66] C. Gasser, E. Gautier, A. Steck, R. E. Siebenmann, R. Oechslin, "Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia" *Schweiz Med Wochenschr*, 85(38-39):905-9, 1955.
- [67] D. A. Rasko, D. R. Webster, J. W. Sahl, A. Bashir, N. Boisen, F. Scheutz, E. E. Paxinos, R. Sebra, C.-S. Chin, D. Iliopoulos, A. Klammer, P. Peluso, L. Lee, A. O. Kislyuk, J. Bullard, A. Kasarskis, S. Wang, J. Eid, D. Rank, J. C. Redman, S. R. Steyert, J. Frimodt-Møller, C. Struve, A. M. Petersen, K. A. Krogfelt, J. P. Nataro, E. E. Schadt, M. K. Waldor, "Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany" *N Engl J Med*, 365(8):709-17, 2011.
- [68] H. Rohde, J. Qin, Y. Cui, D. Li, N. J. Loman, M. Hentschke, W. Chen, F. Pu, Y. Peng, J. Li, F. Xi, S. Li, Y. Li, Z. Zhang, X. Yang, M. Zhao, P. Wang, Y. Guan, Z. Cen, X. Zhao, M. Christner, R. Kobbe, S. Loos, J. Oh, L. Yang, A. Danchin, G. F. Gao, Y. Song, Y. Li, H. Yang, J. Wang, J. Xu, M. J. Pallen, J. Wang, M. Aepfelbacher, R. Yang, "Open-Source Genomic Analysis of Shiga-Toxin-Producing *E. coli* O104:H4" *N Engl J Med*, 365:718-24, 2011.
- [69] W. K. Bae, Y. K. Lee, M. S. Cho, S. K. Ma, S. W. Kim, N. H. Kim, K. C. Choi, "A case of hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O104:H4" *Yonsei Med J*, 47(3):437-39, 2006.
- [70] D. Werber, M. Bielaszewska, C. Frank, K. Stark, H. Karch, "Watch out for the even eviler cousin-sorbitol-fermenting *E. coli* O157" *Lancet* 377(9762):298-99, 2011.

- [71] E. Moschcowitz, "An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries; an undescribed disease" *Am J Med*, 13(5):567-69, 1952.
- [72] H. Trachtman, C. Austin, M. Lewinski, R. A. K. Stahl, "Renal and neurological involvement in typical Shiga toxin-associated HUS" *Nat Rev Nephrol*, 8:658-69, 2012.
- [73] K. Singer, F. P. Bornstein, S. A. Wile, "Thrombotic thrombocytopenic purpura; Hemorrhagic diathesis with generalized platelet thromboses" *Blood*, 2:542-54, 1947.
- [74] J. L. O'Brian, W. A. Sibley, "Neurologic manifestations of thrombotic thrombocytopenic purpura" *Neurology*, 8:55-63, 1958.
- [75] A. Silverstein, "Thrombotic thrombocytopenic purpur: The initial neurologic manifestations" *Arch. Neurol*, 18 358-62, 1968.
- [76] M. Hellmann, M. Hallek, I. Scharrer, "Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura" *Internist*, 51:1136-44, 2010.
- [77] J. E. Sadler, "Von Willebrand factor, ADAMTS13 and thrombotic thrombocytopenic purpura" *Blood* 112:11-18, 2008.
- [78] H. M. Tsai, "Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura" *Int J Hematol*, 91:1-19, 2010.
- [79] R. Schuppner, J. Maehlmann, M. Dirks, H. Worthmann, A. B. Tryc, K. Sandorski, E. Bahlmann, J. T. Kielstein, A. M. Giesemann, H. Lanfermann, K. Weissenborn, "Neurological Sequelae in Adults After E coli O104: H4 Infection-Induced Hemolytic-Uremic Syndrome" *Medicine*, 95(6):e2337, 2016.
- [80] X. L. Zheng, J. E. Sadler, "Pathogenesis of thrombotic microangiopathies" *Annu Rev Pathol*, 3:249-77, 2008.
- [81] H. M. Tsai, E. C. Lian, "Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura" *N Engl J Med*, 339:1585-94, 1998.
- [82] J. Holle, B. Lange-Sperandio, C. Mache, J. Oh, L. Pape, F. Schaefer, U. Vester, L. T. Weber, D. Müller, "Hämolytisch-urämisches Syndrom im Kindes- und Jugendalter" *Monatsschr Kinderheilkd*, 65:1005-18, 2017.



- [83] C. Loirat, F. Fakhouri, G. Ariceta, N. Besbas, M. Bitzan, A. Bjerre, R. Coppo, F. Emma, S. Johnson, D. Karpman, D. Landau, C. B. Langman, A. L. Lapeyraque, C. Licht, C. Nester, C. Pecoraro, M. Riedl, N. C. van de Kar, J. van de Walle, M. Vivarelli, V. Fremeaux-Bacchi, "An international consensus approach to the management of atypical hemolytic uremic syndrome in children" *Pediatr Nephrol*, 31(1):15-39, 2016.
- [84] C. Picard, S. Burtey, C. Bornet, C. Curti, M. Montana, P. Vanelle, "Pathophysiology and treatment of typical and atypical hemolytic uremic syndrome" *Pathol Biol*, 63:136-43, 2015.
- [85] C. Loirat, V. Fremeaux-Bacchi, "Atypical hemolytic uremic syndrome", *Orphanet J Rare Dis*, 6:60, 2011.
- [86] C. M. Nester, T. Barbour, S. R. de Cordoba, M. A. Dragon-Durey, V. Fremeaux-Bacchi, T. H. Goodship, D. Kavanagh, M. Noris, M. Pickering, P. Sanchez-Corral, C. Skerka, P. Zipfel, R. J. Smith, "Atypical aHUS: State of the art" *Mol Immunol*, 67:31-42, 2015.
- [87] A. M. Waters, L. Kerecuk, D. Luk, M. R. Haq, M. M. Fitzpatrick, R. D. Gilbert, C. Inward, C. Jones, B. Pichon, C. Reid, M. P. Slack, W. Van't Hoff, M. J. Dillon, C. M. Taylor, K. Tullus, "Hemolytic uremic syndrome associated with invasive pneumococcal disease: the United kingdom experience" *J Pediatr* 151:140-44, 2007.
- [88] J. Brandt, C. Wong, S. Mihm, J. Roberts, J. Smith, E. Brewer, R. Thiagarajan, B. Warady, "Invasive pneumococcal disease and hemolytic uremic syndrome" *Pediatrics*, 110(2 Pt 1):371-76, 2002.
- [89] S. E. Richardson, M. A. Karmali, L. E. Becker, C. R. Smith, "The histopathology of the hemolytic uremic syndrome associated with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infections" *Hum Pathol*, 19(9):1102-8, 1988.
- [90] H. Ling, A. Boodhoo, B. Hazes, M. D. Cummings, G. D. Armstrong, J. L. Brunton, R. J. Read, "Structure of the shiga-like toxin I B-pentamer complexed with an analogue of its receptor Gb3" *Biochemistry*, 37(7): 1777-88, 1998.
- [91] T. G. Obrig, "Escherichia coli Shiga Toxin Mechanisms of Action in Renal Disease" *Toxins*, 2(12):2769-94, 2010.

- [92] J. Scheiring, S. P. Andreoli, L. B. Zimmerhackl, "Treatment and outcome of Shiga-toxin-associated hemolytic uremic syndrome (HUS)" *Pediatr Nephrol*, 23(10):1749-60, 2008.
- [93] N. Cimolai, J. E. Carter, "Bacterial genotype and neurological complications of Escherichia coli O157:H7-associated haemolytic uraemic syndrome" *Acta Paediatr*, 87(5):593-4, 1998.
- [94] K. Sandvig, "Shiga toxins" *Toxicon*, 39:1629-35, 2001.
- [95] S. Porubsky, B. Luckow, M. Bonrouhi, A. Speak, V. Cerundolo, F. Platt, H.-J. Gröne, "Glykosphingolipide Gb3 und iGb3. In-vivo-Rolle im hämolytisch-urämischen Syndrom und bei der Funktion der iNKT-Zellen" *Pathologe*, 29:297–302, 2008.
- [96] F. Obata, T. Obrig, "Distribution of Gb(3) immunoreactivity in the mouse central nervous system" *Toxins*, 2:1997-06, 2010.
- [97] B. Lämmle, J. A. Kremer Hovinga, L. Alberio, "Thrombotic thrombocytopenic purpura" *J Thromb Haemost*, 3:1663-75, 2005.
- [98] J. N. George, J. A. Kremer Hovinga, D. R. Terrell, S. K. Vesely, B. Lämmle, "The Oklahoma Thrombotic Thrombocytopenic Purpura-Hemolytic Uremic Syndrome Registry: the Swiss connection" *Eur J Haematol*, 80:277-86, 2008.
- [99] F. Proulx, E. G. Seidman, D. Karpman, "Pathogenesis of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome" *Pediatr Res*, 50(2):163-71, 2001.
- [100] D. Orth, A. B. Khan, A. Naim, K. Grif, J. Brockmeyer, H. Karch, M. Joannidis, S. J. Clark, A. J. Day, S. Fidanzi, H. Stoiber, M. P. Dierich, L. B. Zimmerhackl, R. Würzner, "Shiga toxin activates complement and binds factor H: evidence for an active role of complement in hemolytic uremic syndrome" *J Immunol*, 182(10):6394-400, 2009.
- [101] C. Pietrement, N. Bednarek, V. Baudouin, M. Fila, G. Deschênes, "Immunoabsorption for paediatric post-diarrhoea haemolytic-uraemic syndrome with severe neurological involvement" *Clin Kidney J*, 5:484-5, 2012.
- [102] R. L. Siegler, "Spectrum of extrarenal involvement in postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome" *J Pediatr*, 125(4):511-18, 1994.
- [103] S. Akashi, K. Joh, A. Tsuji, H. Ito, H. Hoshi, T. Hayakawa, J. Ihara, T. Abe, M. Hatori, T. Mori, "A severe outbreak of haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome associated with Escherichia coli O157:H7 in Japan" *Eur J Pediatr*, 153(9):650-55, 1994.

- [104] E. Peacock, V. W. Jacob, S. M. Fallone, "Escherichia coli O157:H7: Etiology, clinical features, complications, and treatment" *Nephrol Nurs J*, 28(5):547-50, 553-5, 2001.
- [105] J. M. Geelen, T. J. van der Velden, D. M. Te Loo, O. C. Boerman, L. P. van den Heuvel, L. A. Monnens, "Lack of specific binding of Shiga-like toxin (verocytotoxin) and non-specific interaction of Shiga-like toxin 2 antibody with human polymorphonuclear leucocytes" *Nephrol. Dial. Transplant.*, 22:749-55, 2007.
- [106] E. T. Yamamoto, M. Mizuno, K. Nishikawa, S. Miyazawa, L. Zhang, S. Matsuo, Y. Natori, "Shiga toxin 1 causes direct renal injury in rats" *Infect. Immun*, 73:7099-106, 2005.
- [107] J. E. Lee, J. S. Kim, I. H. Choi, M. Tagawa, T. Kohsaka, D. K. Jin, "Cytokine expression in the renal tubular epithelial cells stimulated by Shiga toxin 2 of Escherichia coli O157:H7" *Ren. Fail*, 24:567-75, 2002.
- [108] V. P. Creydt, C. Silberstein, E. Zotta, C. Ibarra, "Cytotoxic effect of Shiga toxin-2 holotoxin and its B subunit on human renal tubular epithelial cells" *Microbes Infect*, 8:410-19, 2006.
- [109] N. Sato, T. Goto, K. Haranaka, N. Satomi, H. Nariuchi, Y. Mano-Hirano, Y. Sawasaki, "Actions of tumor necrosis factor on cultured vascular endothelial cells: morphologic modulation, growth inhibition, and cytotoxicity" *J. Natl. Cancer Inst*, 76:1113-21, 1986.
- [110] K. W. Salmaj, C. S. Raine, "Tumor necrosis factor mediates myelin and oligodendrocyte damage in vitro" *Ann. Neurol*, 23:339-46, 1988.
- [111] P. B. Eisenhauer, P. Chaturvedi, R. E. Fine, A. J. Ritchie, J. S. Pober, T. G. Cleary, D. S. Newburg, "Tumor necrosis factor alpha increases human cerebral endothelial cell Gb<sub>3</sub> and sensitivity to Shiga toxin" *Infect. Immun*, 69:1889-94, 2001.
- [112] P. K. Stricklett, A. K. Hughes, Z. Ergonul, D. E. Kohan, "Molecular basis for up-regulation by inflammatory cytokines of Shiga toxin 1 cytotoxicity and globotriaosylceramide expression" *J Infect Dis*, 1;186(7):976-82, 2002.
- [113] T. N. Petruzzello-Pellegrini, P. A. Marsden, "Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: advances in pathogenesis and therapeutics" *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 21:433-40, 2012.

- [114] C. D. Inward, A. J. Howie, M. M. Fitzpatrick, F. Rafaat, D. V. Milford, C. M. Taylor, "Renal histopathology in fatal cases of diarrhoea-associated haemolytic uraemic syndrome. British Association for Paediatric Nephrology" *Pediatr Nephrol*, 11(5):556-59, 1997.
- [115] H. M. Tsai, W. L. Chandler, R. Sarode, R. Hoffmann, S. Jelacic, R. L. Habeeb, S. L. Watkins, C. S. Wong, G. D. Williams, P. I. Tarr, "von Willebrand factor and von Willebrand factor-cleaving metalloprotease activity in Escherichia coli O157:H7-associated hemolytic uremic syndrome" *Pediatr Res* 49(5):653-59, 2001.
- [116] K. Upadhyaya, K. Barwick, M. Fishaut, M. Kashgarian, N. J. Siegel, "The importance of nonrenal involvement in hemolytic-uremic syndrome" *Pediatrics*, 65(1): 115-20, 1980.
- [117] C. A. Hickey, T. J. Beattie, J. Cowieson, Y. Miyashita, C. F. Strife, J. C. Frem, J. M. Peterson, L. Butani, D. P. Jones, P. L. Havens, H. P. Patel, C. S. Wong, S. P. Andreoli, R. J. Rothbaum, A. M. Beck, P. I. Tarr, "Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome" *Arch Pediatr Adolesc Med*, 165:884-89, 2011.
- [118] Z. M. Szczepiorkowski, J. L. Winters, N. Bandarenko, H. C. Kim, M. L. Linenberger, M. B. Marques, R. Sarode, J. Schwartz, R. Weinstein, B. H. Shaz, "Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice - evidence-based approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis" *J Clin Apher*, 25:83-177, 2010.
- [119] M. Noris, E. Bresin, C. Mele, G. Remuzzi, "Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome" In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. GeneReviews™ [online]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2007 Nov 16 [updated 2011 Mar 10].
- [120] I. Scharrer, "Haemostaseological diseases on the intensive care units: TTP, HUS, spontaneous acquired FVIII inhibitor haemophilia and catastrophic antiphospholipid syndrome" *Hamostaseologie* 25(2):200-4, 2005.
- [121] B. Stegmayr, W. Ramlow, R. A. Balogun, "Beyond dialysis: current and emerging blood purification techniques" *Semin Dialysis*, 25:207-13, 2012.
- [122] L. Renders, M. Wen, C. Küchle, "Plasmapherese und Immunadsorption" *Nephrologe*, 9:284-92, 2014.

- [123] S. Dundas, J. Murphy, R. L. Soutar, G. A. Jones, S. J. Hutchinson, W. T. A. Todd, "Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire Escherichia coli O157:H7 outbreak" *Lancet*, 354:1327-30, 1999.
- [124] C. S. Wong, S. Jelacic, R. L. Habeeb, S. L. Watkins, P. I. Tarr, "The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7 infections" *N Engl J Med*, 342(26): 1930-36, 2000.
- [125] G. Z. Panos, G. I. Betsi, M. E. Falagas, "Systematic review: are antibiotics detrimental or beneficial for the treatment of patients with Escherichia coli O157:H7 infection?" *Aliment Pharmacol Ther*, 24:731-42, 2006.
- [126] N. Safdar, A. Said, R. E. Gangnon, D. G. Maki, "Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157:H7 enteritis: a meta-analysis" *JAMA*, 288:996-1001, 2002.
- [127] A. L. Lapeyraque, M. Malina, V. Fremeaux-Bacchi, T. Boppel, M. Kirschfink, M. Oualha, F. Proulx, M. J. Clermont, F. Le Deist, P. Niaudet, F. Schaefer, "Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS" *N Engl J Med*, 364:2561-63, 2011.
- [128] S. Ashkenazi, T. G. Cleary, E. Lopez, L. K. Pickering, "Anticytotoxin-neutralizing antibodies in immune globulin preparations: potential use in hemolytic-uremic syndrome" *J Pediatr*, 113:1008-14, 1988.
- [129] M. W. Boehme, W. H. Schmitt, P. Youinou, W. R. Stremmel, W. L. Gross, "Clinical relevance of elevated serum thrombomodulin and soluble E-Selektin in patients with Wegner's granulomatosis and other systemic vasculitides" *Am J Med*. 101, 387-94, 1996.
- [130] G. Bäumlner, *Farb-Wort-Interferenztest (FWIT) nach J. R. Stroop*, 1. Auflage, Verlag für Psychologie Hogrefe. Göttingen, 1985.
- [131] M. Reiser., F. P. Kuhn, J. Debus, *Duale Reihe Radiologie*, 3. Auflage, Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Deutschland 2011.
- [132] Uniklinikum Jena: *Suszeptibilitätsgewichtete MRT*. URL: <https://www.uniklinikum-jena.de/idir/Arbeitsgruppen+im+IDIR/AG+Medizinische+Physik/Forschung/suszeptibilit%C3%A4tsbasierte+MRT/Suszeptibilit%C3%A4tsgewichtete+MRT.html> (Stand 25.11.2020)
- [133] J. L. Moake, "Thrombotic microangiopathies" *N Engl J Med*, 347:589-600, 2002.

- [134] K. Egerer, U. Rohr, D. Krausch, W. Kox, "Die zirkulierenden Adhäsionsmoleküle sICAM-1 und sE-Selektin bei Patienten mit Sepsis" *Anästhesist*, 46:592-98, 1997.
- [135] R. Rothlein, E. A. Manolfi, M. Czaikowski, S. D. Marlin, "A form of circulating ICAM-1 in human serum" *J Immunol*, 147:3788-93, 1991.
- [136] G. Herold, *Innere Medizin*, Herold-Verlag, Köln, Deutschland 2014.
- [137] N. C. van de Kar, R. W. Sauerwein, P. N. Demacker, G. E. Grau, V. W. van Hinsbergh, L. A. Monnens, "Plasma cytokine levels in hemolytic uremic syndrome" *Nephron*, 71(3):309-13, 1995.
- [138] T. Yamamoto, K. Nagayama, K. Satomura, T. Honda, S. Okada, "Increased serum IL-10 and endothelin levels in hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O157" *Nephron*, 84(4):326-32, 2000.
- [139] C. D. Inward, M. Varagunam, D. Adu, D. V. Milford, C. M. Taylor, "Cytokines in haemolytic uraemic syndrome associated with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection" *Arch Dis Child*, 77(2):145-47, 1997.
- [140] S. Suzuki, K. Tanaka, N. Suzuki, "Ambivalent aspects of interleukin-6 in cerebral ischemia: inflammatory versus neurotrophic aspects" *J Cereb Blood Flow Metab*, 29:464-79, 2009.
- [141] P. A. van Setten, V. W. van Hinsbergh, L. P. van den Heuvel, F. Preyers, H. B. Dijkman, K. J. Assmann, T. J. van der Velden, L. A. Monnens, "Monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 levels in urine and serum of patients with hemolytic uremic syndrome" *Pediatr Res*, 43:759-67, 1998.
- [142] M. M. Fitzpatrick, V. Shah, R. S. Trompeter, M. J. Dillon, T. M. Barratt, "Interleukin-8 and polymorphoneutrophil leucocyte activation in hemolytic uremic syndrome of childhood" *Kidney Int*, 42(4):951-56, 1992.
- [143] S. C. Jones, S. W. Evans, A. J. Lobo, M. Ceska, A. T. Axon, J. T. Whicher, "Serum interleukin-8 in inflammatory bowel disease" *J Gastroenterol Hepatol*, 8:508-12, 1993.
- [144] B. D. Semple, T. Kossman, M. C. Morganti-Kossmann, "Role of chemokines in CNS health and pathology: a focus on the CCL2/CCR2 and CXCL8/CXCR2 networks" *J Cereb Blood Flow Metab*, 30(3):459-73, 2010.
- [145] R. M. Onishi, S. L. Gaffen, "Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease" *Immunology*, 129(3):311-21, 2010.

- [146] A. Hot, V. Lenief, P. Miossec, "Combination of IL-17 and TNF $\alpha$  induces a pro-inflammatory, procoagulant and pro-thrombotic phenotype in human endothelial cells" *Ann Rheum Dis*, 71(5):768-76, 2012.
- [147] D. M. Fernandes, C. L. Baldwin, "Interleukin-10 downregulates protective immunity to *Brucella abortus*" *Infect Immun*, 63:1130-33, 1995.
- [148] C. Woiciechowsky, K. Asadullah, D. Nestler, B. Eberhardt, C. Platzer, B. Schoning, F. Glockner, W. R. Lanksch, H. D. Volk, W. D. Docke, "Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury" *Nature Med*, 4:808-13, 1998.
- [149] A. Murata, T. Shimazu, T. Yamamoto, N. Taenaka, K. Nagayama, T. Honda, H. Sugimoto, M. Monden, N. Matsuura, S. Okada, "Profiles of circulating inflammatory- and anti-inflammatory cytokines in patients with hemolytic uremic syndrome due to *E. coli* O157 infection" *Cytokine*, 10(7):544-48, 1998.
- [150] I. Derad, B. Obermann, A. Katalinic, N. Eisemann, J. K.-M. Knobloch, F. Sayk, P. Wellhöner, H. Lehnert, W. Solbach, S. Sufke, J. Steinhoff, M. Nitschke, "Hypertension and mild chronic kidney disease persist following severe haemolytic uraemic syndrome caused by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 in adults" *Nephrol Dial Transplant*, 0:1-9, 2015.
- [151] U. Löbel, B. Eckert, O. Simova, M. Meier-Cillien, S. Kluge, C. Gerloff, J. Röther, T. Magnus, J. Fiehler, "Cerebral magnetic resonance imaging findings in adults with haemolytic uraemic syndrome following an infection with *Escherichia coli*, subtype O104:H4" *Clin Neuroradiol*, 24(2):111-19, 2014.
- [152] A. Reising, C. Hafer, M. Hiss, J. T. Kielstein, J. Menne, F. Gueler, J. Beneke, S. Linnenweber-Held, H. Haller, G. Einecke, "Ultrasound findings in EHEC-associated hemolytic-uremic syndrome and their clinical relevance" *Int Urol Nephrol*, 48(4):561-70, 2016.
- [153] T. Merten, "Der Visuelle AssoziationsTest (VAT) - ein neuer Kurztest zur Erfassung anterograder Gedächtnisstörungen" *Report Psychologie*, 29:178-81, 2004.
- [154] W. Huber, K. Poeck, D. Weniger, K. Willmes, *Aachener Aphasie Test*, 1. Auflage, Hogrefe, Göttingen, Deutschland 1983.

# Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei all jenen bedanken, die bei der Fertigstellung dieser Promotionsarbeit beigetragen haben:

Ich bedanke mich vor allem bei dem nephrologischen Forschungslabor der Inneren Medizin A der Universitätsmedizin Greifswald, besonders bei Frau Prof. Dr. S. Stracke für die Möglichkeit der Promotion und die Geduld. Des Weiteren bei der chemisch-technischen Assistentin Norina Loth für ihre unermessliche Unterstützung im Labor.

Ebenso bedanken möchte ich mich bei Herrn Dipl.-Psych. Michael Opolka, Dr. Magbauer, Prof. Dr. med. Alexander Dressel sowie Katja Quadrat.

Von ganzem Herzen möchte ich mich insbesondere bei meinem Freund und meinen Eltern für die großartige Unterstützung zu jeder Zeit bedanken.