

Aus der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

**Erythroblasten im peripheren Blut als prognostischer Parameter
für Mortalität bei Patienten mit akutem Lungenversagen**

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

Vorgelegt der medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lena Giebelhäuser

aus Berlin

Datum der Promotion: 30.11.2023

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	3
ABSTRAKT	5
ABSTRACT	6
1 EINLEITUNG	7
1.1 ERYTHROPOESE UND ERYTHROBLASTEN	7
1.2 REGULATION DER ERYTHROPOESE	11
1.3 ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROM	13
1.3.1 EPIDEMIOLOGIE, ÄTIOLOGIE UND DIAGNOSEKRITERIEN DES ARDS	13
1.3.2 PATHOPHYSIOLOGIE DES ARDS	15
1.3.3 MANAGEMENT UND THERAPIE DES ARDS	18
2 FRAGESTELLUNG	22
3 METHODIK	23
3.1 STUDIENDESIGN	23
3.2 PATIENTEN UND DATENERHEBUNG	23
3.3 LABORUNTERSUCHUNGEN	25
3.4 STATISTISCHE AUSWERTUNG	25
4 ERGEBNISSE	27
4.1 PATIENTENKOLLEKTIV	27
4.2 KONZENTRATIONSMAXIMA DER ERYTHROBLASTEN UND ENTWICKLUNG DER KONZENTRATION ÜBER DEN BEHANDLUNGSZEITRAUM	31
4.3 ERYTHROBLASTEN UND MORTALITÄT	36
4.4 PROGNOTISCHE VALIDITÄT	39
4.5 PULMONALER GASAUSTAUSCH UND AUSPRÄGUNG DER ORGANDYSFUNKTION	42
4.6 RISIKOFAKTOREN FÜR DAS AUFTRETEN VON ERYTHROBLASTEN-KONZENTRATIONEN > 220/μL	45
5 DISKUSSION	46
5.1 ERYTHROBLASTEN IM PERIPHEREN BLUT ALS PRÄDIKTIVER FAKTOR DER ERHÖHTEN MORTALITÄT	46
5.2 ERYTHROBLASTEN IM PERIPHEREN BLUT ALS PARAMETER BEI ARDS	48
5.3 LIMITATIONEN	56
5.4 SCHLUSSFOLGERUNG	57
6 LITERATUR	58
EIDESSTAATLICHE VERSICHERUNG	64
ANTEILSERKLÄRUNG AN ETWAIGEN ERFOLGTEN PUBLIKATIONEN	65
CURRICULUM VITAE	66
PUBLIKATIONSLISTE	67
DANKSAGUNG	68

Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Acute respiratory distress syndrome
APACHE II	Acute physiology and chronic health evaluation II
AUC	Area under the curve
BMI	Body mass index
CAP	Community acquired pneumonia
CFU-E	Colony-forming unit (Erythrozyten)
CFU-GEMM	Colony-forming unit (Granulozyten, Erythrozyten, Monozyten, Megakaryozyten)
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
COVID-19	Coronavirus disease 2019
CREB	cAMP response element-binding protein
Delta P	Driving pressure = Druckdifferenz zwischen end-expiratorischem und inspiratorischem Atemwegsdruck
EBI-CM	erythroblastic island central macrophage
ECCO ₂ R	Extracorporeal carbon dioxide removal
ECLS	Extracorporeal lung support
ECMO	Extracorporeal membrane oxygenation
EPO	Erythropoetin
ERFE	Erythroferron
Et al.	et alii / et aliae = und andere
FiO ₂	Fraction of inspired oxygen = inspiratorische Sauerstofffraktion
HAP	Hospital acquired pneumonia
HIF (-α/ -β)	Hypoxia inducible factor (-alpha/ -beta)
HIF2-α	Hypoxia inducible factor 2-beta
HIV	Human immunodeficiency virus
IFN-β	Interferon-β
IL	Interleukin
IQR	Interquartile range = Interquartilbereich
MLR	Multiple linear regression
NETs	Neutrophil extracellular traps
NIV	Nicht invasive Ventilation
NO	Stickstoffmonoxid
NRBC	Nucleated red blood cells
OI	Oxygenation index = mean airway pressure x FiO ₂ x 100 ÷ PaO ₂

Abkürzungsverzeichnis

PaO ₂	Partial pressure of oxygen = Sauerstoffpartialdruck
PARDS	Pediatric acute respiratory distress syndrome
pECLA	Pumpless extracorporeal lung assist
PEEP	Positive end expiratory pressure
PFTs	Pore-forming toxins
Pmean	Mean airway pressure = Mitteldruck
Ppeak	Peak pressure = Inspiratorischer Spitzendruck
RNA	Ribonucleic acid
ROC	Receiver operator curve
ROS	Reactive oxygen species
SAPS II	Simplified acute physiologic score II
SCF	Stem cell factor
SOFA	Sequential organ failure assessment
SQL	Structured query language
TISS-28	Therapeutic intervention scoring system
TNF	Tumor Nekrose Faktor
TRALI	Transfusion-related acute lung injury
VALI	Ventilator-associated lung injury

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung der Sprachformen männlich, weiblich und divers (m/w/d) verzichtet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten gleichermaßen für alle Geschlechter.

Abstrakt

Hintergrund: Das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut bei kritisch kranken Patienten wird assoziiert mit erhöhter Mortalität und schlechtem Outcome. Das Ziel dieser retrospektiven Datenanalyse war es, die prognostische Wertigkeit von Erythroblasten im peripheren Blut bei Patienten mit ARDS zu untersuchen.

Methodik: Es wurden Behandlungsdaten aus den Jahren 2007-2014 der Station 8i, überregionales ARDS-Zentrum am Campus Virchow Klinikum der Charité, erfasst. Insgesamt wurden 404 Patienten eingeschlossen. Die täglichen Messwerte der absoluten Erythroblasten im peripheren Blut wurden zur statistischen Analyse herangezogen. Mittels ROC-Analyse berechneten wir einen Cut-off Wert für NRBC Konzentration und validierten diesen via Youden-Index. Longitudinale Daten wurden mittels multivariaten nichtparametrischen Analysen untersucht, um Unterschiede zwischen NRBC negativen und positiven Patienten beziehungsweise Patienten mit Konzentrationen unter und über dem errechneten Cut-off Wert darzustellen. Wir identifizierten unabhängige Faktoren für die Mortalität und das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut mittels multipler logistischer Regressionsanalyse und Cox Regressionsanalyse. In einer Kaplan-Meier Methode stellten wir Überleben dar und analysierten die entsprechenden Kurven via Log-Rank-Test auf Unterschiede.

Ergebnisse: Erythroblasten im peripheren Blut konnten bei 75,5% der Patienten festgestellt werden. Ihr Nachweis stand in Zusammenhang mit längerer Notwendigkeit einer mechanischen Beatmung (median 484 Stunden [25. Perzentile: 242 Stunden; 75. Perzentile: 825 Stunden] versus 308 [154;527] Stunden; $p < 0.001$), längerem Aufenthalt auf der Intensivstation (22 [11;39] versus 14 [7;26] Tage; $p < 0.05$) und erhöhten Mortalitätsraten (50,8% versus 27,3%; $p < 0.001$). Es wurden häufiger extrakorporale Lungenersatzverfahren bei NRBC positiven Patienten etabliert (46,9% versus 13,1%; $p < 0.001$). Die logistische Regressionsanalyse zeigte in Hinblick auf die Mortalität ein mehr als verdoppeltes Risiko für das Versterben auf der ITS im Falle eines Auftretens von Erythroblasten im peripheren Blut (OR 2.03; 95% CI 1.16 – 3.55; $p < 0.05$). Die Erythroblasten wurden mittels schrittweiser Rückwärtsselektion als unabhängiger Risikofaktor für das Versterben bestätigt. Wir berechneten anschließend einen Cut-off Wert von 220 Erythroblasten je Mikroliter Blut als hoch spezifisch und hoch sensitiv in Hinblick auf die Prädiktion der Mortalität. Konzentrationen über diesem Schwellenwert gingen mit einem mehr als verdreifachten Risiko für das Versterben auf Intensivstation einher (OR 3.2; 95% CI 1.93-5.35; $p < 0.0001$). Patienten deren Konzentrationen unter dem berechneten Cut-off Wert lagen, hatten einen signifikanten Überlebensvorteil (medianes Überleben 85 Tage versus 29 Tage; Log-Rank $p < 0.001$). Der Schweregrad eines schweren ARDS laut Berlin Definition konnte als unabhängiger Risikofaktor für Erythroblastenkonzentrationen $> 220/\mu\text{l}$ identifiziert werden (OR 1.81; 95% CI 1.1-2.97; $p < 0.05$).

Schlussfolgerung: Erythroblasten im peripheren Blut können mit hoher prognostischer Aussagekraft ein erhöhtes Risiko für das Versterben auf der Intensivstation bei Patienten mit ARDS vorhersagen. Die Anwesenheit dieser Zellen kann als Parameter für den Schweregrad der Erkrankung dienen und auf eine erhöhte Mortalität hindeuten.

Abstract

Background: The appearance of nucleated red blood cells (NRBC) in the peripheral blood of critically ill patients is associated with increased mortality and worsened outcome. The aim of this retrospective data analysis was to evaluate the prognostic value of nucleated red blood cells in the peripheral blood in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS).

Methods: Data from patients being submitted to an ARDS referral center unit between 2007 and 2014 were collected. 404 patients were included and absolute NRBC counts in the peripheral blood were used for analysis. Specifically, a cut-off value for NRBC concentrations was calculated via ROC analysis and specified via Youden's method. Using multivariate non-parametrical analysis for longitudinal data differences between the groups NRBC negative and positive patients were examined over the whole time course. To identify independent predictors of mortality and the appearance of NRBC in the peripheral blood multiple logistic and Cox' regression analyses were applied. Patients survival was analyzed by Kaplan-Meier curve and tested via Log-Rank-test for differences.

Results: NRBC in the peripheral blood were detected in 75,5% of the patients. Their appearance was associated with longer period of mechanical ventilation (median: 484 hrs; 25 percentile: 242hrs; 75 percentile: 825hrs) versus 308 hrs [154;527] hours; $p < 0.001$), longer duration of stay on ICU (22 days [11,39] versus 14 days [7;26]; $p < 0.05$) and higher mortality rates (50,8% versus 27,3%; $p < 0.001$). More often extracorporeal gas exchange via ECMO had to be implemented in NRBC positive patients (46,9% versus 13,1%; $p < 0.001$). Logistic regression analysis showed a more than doubled risk for death on ICU if NRBC occurred in the peripheral blood (OR 2.03; 95% CI 1.16 – 3.55; $p < 0.05$) which were identified as an independent risk factor for mortality. A cut-off level of 220 nucleated red blood cells/ μ l was associated with a more than tripled risk of death on ICU (OR 3.2; 95% CI 1.93-5.35; $p < 0.0001$). Patients with concentrations below this cut-off level had a significant survival advantage (median survival: 85 days versus 29 days; $p < 0.001$). A severe ARDS according to the Berlin Definition was determined as an independent risk factor for the appearance of NRBC concentrations above 220 cells/ μ l (OR 1.81; 95% CI 1.1-2.97; $p < 0.05$).

Conclusion: NRBC in the peripheral blood predict mortality on ICU in ARDS patients with high prognostic strength. The presence of these cells might be considered as a parameter of disease severity pointing to a higher risk of death on ICU.

1 Einleitung

1.1 Erythropoese und Erythroblasten

Die Erythropoese als Teilvorgang der Hämatopoese beschreibt den Vorgang der Bildung der Erythrozyten. Erythrozyten spielen als Transporter der Sauerstoffmoleküle ins Gewebe bei fast allen Wirbeltieren die alles entscheidende Rolle. Erythrozyten machen mit einem Anteil von 45-55% am Gesamtblutvolumen (6-7 Liter) den überwiegenden Anteil der festen Bestandteile beim erwachsenen Menschen aus. Um das konstante Verhältnis der Blutbestandteile und die uneingeschränkte Funktion des Blutes zu gewährleisten, werden dafür im Rahmen der Erythropoese schätzungsweise zwei Millionen Erythrozyten jede Sekunde gebildet [61]. Der Ort der Erythropoese ist bei Kindern und Erwachsenen das Knochenmark. Bei Erwachsenen findet der größte Teil der Hämatopoese im Knochenmark von Sternum, Pelvis und Femur statt. Alle Zellen des Blutes stammen entwicklungs-morphologisch vom Hämangioblasten ab, eine pluripotente Stammzelle, die nicht nur hämatologische, sondern auch Endothelzellen hervorbringen kann. Nach diversen Zellteilungen und intrazellulären Reifungsprozessen entwickelt sich aus der sogenannten CFU-E zunächst ein Proerythroblast. Der CFU-E minimiert seinen Umfang durch weitere Zellteilungen. Nach weiterer Dezimierung des Umfanges und beginnender Hämoglobin-Synthese wird die entstehende Zelle als Erythroblast bezeichnet. Mikroskopisch lassen sich zu diesem Zeitpunkt die Erythroblasten in basophil, polychromatisch und orthochromatisch unterscheiden (vgl. Abbildung 1), je nach Anfärbbarkeit des Zytoplasmas. Mit weiter steigendem Hämoglobin-Gehalt und regredienter Zellgröße werden die entstehenden Zellen im englischen Sprachgebrauch als Nucleated Red Blood Cells (NRBC) bezeichnet. Da diese sehr genaue Differenzierung zwischen Proerythroblast, basophilen, polychromatischen und orthochromatischen Erythroblasten nur mikroskopisch möglich ist und literarisch nicht einheitlich verwendet wird, werden in dieser Dissertation die Begriffe Erythroblast, NRBC und Normoblast synonym verwendet. Sie haben gemein, dass es sich um kernhaltige Blasten handelt, die aus einer Stammzelle der CFU-E Reihe entspringen und im weiteren Prozess der Ausdifferenzierung zu Erythrozyten heranreifen. Erythroblasten sind bei gesunden Erwachsenen nicht im peripheren Blut, also einem standardisierten Differentialblutbild, nachweisbar. Schreier und Triampo konstatierten, dass Erythroblasten vereinzelt in sehr geringer Anzahl auch bei gesunden Individuen nachweisbar sind. Laut These der Autoren führt die sehr geringe Konzentration im peripheren Blut dazu, dass die Sensitivität von

standardisierten Analyse Geräten nicht ausreicht, um einen positiven Nachweis zu erbringen. Erythroblasten bilden hauptsächlich im Knochenmark (bei Neugeborenen auch in der fetalen Leber) sogenannte Erythroblastische Inseln (erythroblastic islands). Im Zentrum dieser ringförmigen Zellanordnung befindet sich eine Makrophage, die zusammen mit den Erythroblasten eine hochspezialisierte erythropoetische Nische bilden. In der Vergangenheit wurde angenommen, dass die zentral angeordnete Makrophage lediglich die ausgestoßenen Zellkompartimente der Zellen der erythropoetischen Reihe, wie beispielsweise Zellkern, endoplasmatisches Retikulum und Mitochondrien, phagozytiert. Mittlerweile deuten Forschungsergebnisse jedoch daraufhin, dass diesen Makrophagen eine weitaus wichtigere Rolle im Rahmen der Erythropoese zuteilwird: Die Makrophagen in den erythroblastischen Inseln sezernieren Zytokine und aktivieren mithilfe von anderen Signalen, zum Beispiel über Adhäsions-Moleküle auf ihrer Zelloberfläche die Erythropoese. Da diesen Insel-Makrophagen in den vergangenen Jahren zunehmend Aufmerksamkeit in der Grundlagenforschung der Hämatologie zuteilwurde, werden sie in der Fachliteratur mittlerweile häufig als EBI-CM (erythroblastic island central macrophage) bezeichnet. Die EBI-CM aktiviert mithilfe von interzellulären Adhäsionsmolekülen eine Vielzahl von intrazellulären Stoffwechselfvorgängen bei den Erythroblasten der Inselnische. Ebenso wirken lösliche Botenstoffe, die teilweise von der EBI-CM selbst sezerniert werden, auf die umgebenden Erythroblasten. In zahlreichen daraus resultierenden Auf- und Abbauprozessen, steuert die EBI-CM so die Reifung der Erythroblasten [32, 61]. Im Laufe der Reifung werden die Erythroblasten ihren Kern mit dem enthaltenen Chromatin verdichten und verkleinern. Sie autophagieren oder stoßen Zellorganellen wie Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum mit Golgi-Apparat, Ribosomen und Lysozymbestandteile ab. Es werden Oberflächenmoleküle umgebaut und das Zytoskelett wird an den sich verringernden Durchmesser angepasst. Zuletzt wird der kondensierte Zellkern abgestoßen und vom EBI-CM phagozytiert. Es wird außerdem vermutet, dass die EBI-CM eine zentrale Rolle spielen könnte bei der Versorgung der NRBC mit Eisen, für die mit der weiteren Differenzierung verbundenen Häm-Synthese [32]. Mit dem Fortschreiten der Reifung der NRBC bewegt sich die erythroblastische Insel näher in Richtung der Sinusoide des Knochenmarks. Wahrscheinlich wird den reifen Zellen dadurch die Migration in die Blutstrombahn erleichtert. Die zellulären Mechanismen der Migration von Erythroblasten ins periphere Blut sind jedoch nicht ausreichend untersucht. Die Erythroblasten stoßen im Verlauf ihren Zellkern aus, womit sie zu Retikulozyten werden. Retikulozyten sind bei gesunden erwachsenen Individuen in geringer Konzentration im peripheren Blut nachweisbar. Im Inneren des Retikulozyten laufen weitere verschiedene

Einleitung

Prozesse ab, die sowohl Membranproteine als auch Zellskelett weiter transformieren und schließlich zur typisch bikonkaven Form des reifen Erythrozyten führen [58, 61]. Des Weiteren werden die letzten Moleküle Messenger-RNA abgebaut, welche den Retikulozyten in der mikroskopischen Ansicht bläulich getönt erscheinen lassen. Letzte verbleibende Zellorganellen werden exozytiert oder autophagiert [20]. Diese Prozesse nehmen ungefähr 24 bis 48 Stunden in Anspruch, in deren Anschluss diese Zelle als neuer Erythrozyt für eine mediane Lebensdauer von 100 bis 120 Tagen am Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxid-Transport im Organismus beteiligt sein wird [56] [27].

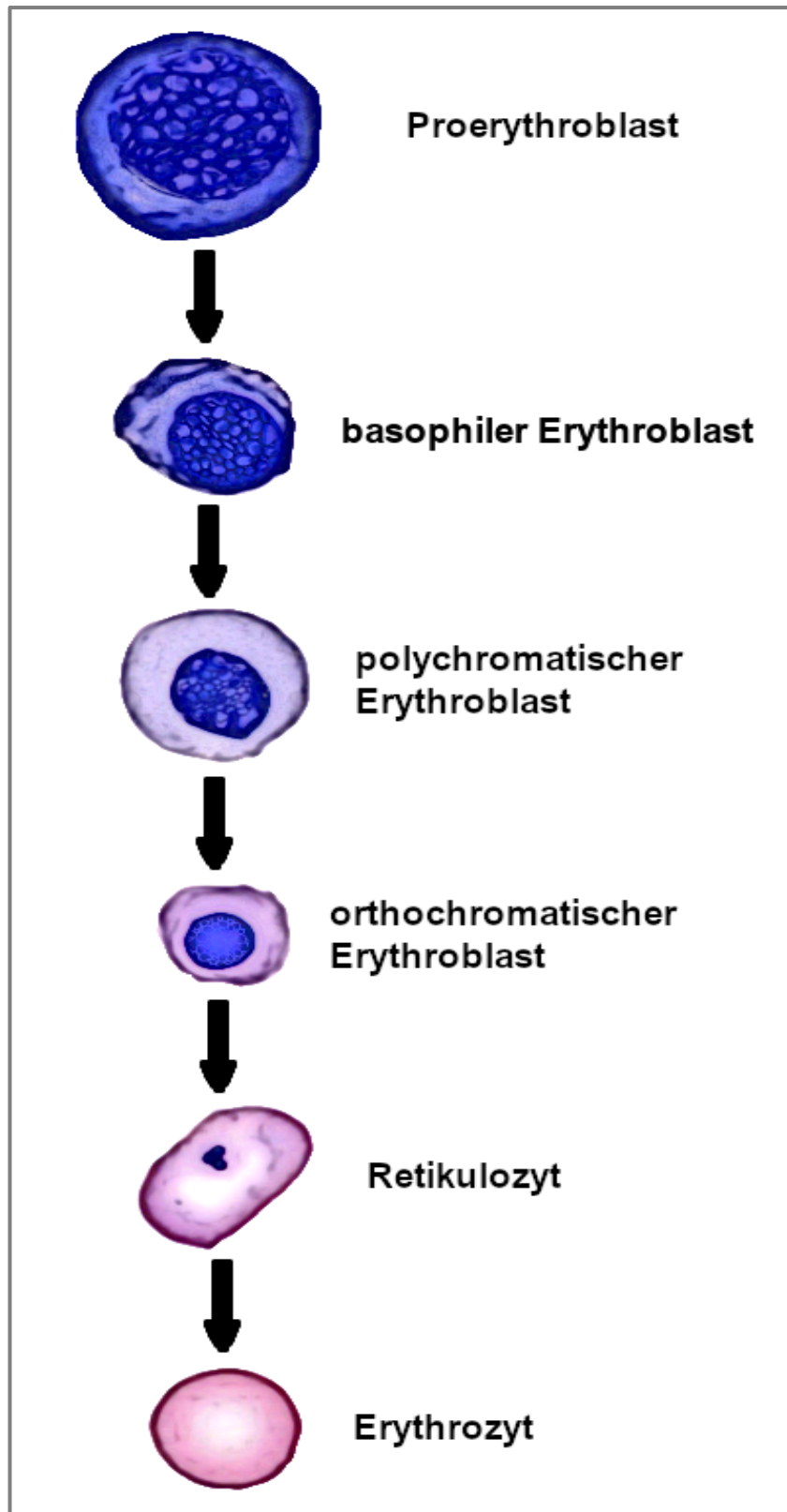


Abbildung 1
schematische Darstellung des Reifungsprozesses von Proerythroblast bis hin zum reifen Erythrozyt

Quelle: eigene Grafik

1.2 Regulation der Erythropoese

Die Erythropoese wird durch viele verschiedene Wachstumsfaktoren reguliert und beeinflusst. Die pluripotenten Stammzellen werden vor allem durch SCF (stem cell factor) zur Proliferation und Teilung angeregt. Für die erythropoetische Zellreihe ist es nachweislich vor allem das Erythropoetin, kurz auch als EPO bezeichnet, welches auf Proerythroblasten und die darauffolgenden Blasten der Entwicklungslinie wirkt. Vermutlich wirkt EPO auch schon auf die CFU-E Vorläuferzellen, indem es sie vor Apoptose schützt [58]. EPO wird in hohen Konzentrationen vor allem durch renale Fibroblasten des Cortex renalis gebildet. Diese sezernieren in Anwesenheit von HIF Erythropoetin: Bei verminderter Sauerstoffsättigung wird die HIF α -Untereinheit in den Zellkern verlagert. Hier erfolgt die Bindung an HIF- β . Nach Bindung zwei weiterer Kernproteine (CREB und Transkriptionsfaktor p300) beginnt anschließend die Transkription und Translation des EPO-Gens [30, 35]. Neben EPO als stärkstem bekannten Aktivator der Erythropoese, können auch Interleukin-3 und Thrombopoetin auf Ebene der CFU-GEMM Vorläuferzelle pro-erythropoetisch wirken. Auch Testosteron wirkt als ein Wachstumsfaktor auf erythropoetische Stammzellen. Zudem gibt es Hinweise darauf, dass Thyroxin und Triiodthyronin eine wachstumsfaktorähnliche Wirkung auf die erythropoetischen Stammzellen haben könnten [58]. Diesen direkten Stimulatoren der Erythropoese stehen weitere Mechanismen gegenüber, die auf indirektem Wege die Erythropoese hemmen oder aktivieren können. So sind Eisenstoffwechsel und Erythropoese eng miteinander verknüpft. Eisen wird in die Enterozyten im Darm aufgenommen und über das Transmembrantransportmolekül Ferroportin an das im Serum zirkulierende Transportmolekül Transferrin abgegeben. Das gesättigte Transferrin Molekül transportiert anschließend die Eisenionen zu den Zielorganen. Ein wichtiger Regulator des Eisenstoffwechsels ist das in der Leber synthetisierte Heparin. Physiologisch sorgen erhöhte Heparin Konzentrationen dafür, dass die Eisenaufnahme aus dem Darmlumen gehemmt und die Abgabe von recycelten Eisen (aus Makrophagen) ins Plasma reduziert wird, indem es direkt an Ferroportin bindet [35, 42]. Die Heparin Synthese wird gehemmt durch ein Molekül, das von den Erythroblasten selbst sezerniert wird, das sogenannte Erythroferron, häufig abgekürzt als ERFE. ERFE Synthese und Sekretion wird durch hohe EPO Konzentrationen stimuliert [24]. Der Eisenstoffwechsel ist vielseitig über ähnliche Loop-Feedback Mechanismen reguliert, um eine Eisenüberladung des Organismus zu verhindern,

da eine hohe Eisenkonzentration durch entstehende reaktive Sauerstoffspezies (ROS) gewebetoxisch wirken kann.

Diesen physiologisch beobachteten Regulationsmechanismen stehen daher verschiedene pathophysiologische Besonderheiten gegenüber. Da Eisenionen als Co-Faktoren für viele bakterielle Enzyme benötigt werden, dient eine Eisenrestriktion dem Organismus als Abwehrmechanismus gegen Pathogene. Daher ist eine Anämie oft mit Infektionen assoziiert und vice versa [35]. Auf molekularer Ebene erfolgt diese Regulation über Hepcidin. Hepcidin zählt zu den Akute Phase Proteinen und zeigt eine erhöhte Konzentration bei Inflammation. Die Hochregulation der Hepcidin-Synthese erfolgt zytokinvermittelt durch erhöhte Konzentration von IL-6, höchstwahrscheinlich auch durch IL-1, IL-22 und Activin B [42, 60]. Des Weiteren gibt es Hinweise darauf, dass diverse Zytokine eisen- und hepcidinunabhängig die Erythropoese hemmen können. Dazu zählen IL-1 und TNF. Diese Mechanismen stehen unter Verdacht maßgeblich an der Genese der sogenannten Anämie bei chronischer Erkrankung, in manchen Quellen auch als Anämie der Inflammation bezeichnet, beteiligt zu sein. Wenn auch weitaus weniger untersucht, erscheint die Anämie der akuten Critical Illness multifaktorieller Genese zu sein [60]. In einigen Untersuchungen wurden hier Prävalenzen der Anämie bei Critical Illness auf Intensivstation von nahezu 80% angegeben [59].

1.3 Acute Respiratory Distress Syndrom

Das Acute Respiratory Distress Syndrom, auch akutes Atemnotsyndrom oder akutes Lungenversagen genannt, ist ein Krankheitsbild, welches mit einer schweren respiratorischen Insuffizienz einhergeht. Erstmals beschrieben wurde das ARDS 1967 von Ashbaugh in einem Artikel im „Lancet“. Obgleich die Erstbeschreibung im Rahmen einer kleinen Fallstudie mit 12 Patienten mit zivilem Hintergrund erfolgte, wurde das Krankheitsbild auf dem amerikanischen Kontinent später vor allem mit dem Vietnamkrieg assoziiert. Soldaten, die nach schwerer Verletzung zunächst wiederbelebt oder stabilisiert werden konnten und anschließend zügig via Helikopter aus dem Kriegsgebiet evakuiert wurden, entwickelten im Verlauf schwere Atemnot und eine Hypoxie, welche weitestgehend resistent gegenüber Sauerstoffinsufflation war. Die folgende Diagnostik offenbarte in thorakalen Röntgenaufnahmen ein ubiquitäres Lungenödem, dass unter anderen Umständen mit einem akuten Linksherzversagen vereinbar gewesen wäre. Da es sich bei den verwundeten Soldaten um zuvor junge und gesunde Männer handelte, wurde den behandelnden Feldärzten schnell klar, dass andere Faktoren zu dem lebensbedrohlichen Krankheitsbild führen mussten [14]. Inzwischen ist das ARDS auf Intensivstationen weltweit ein bekanntes Syndrom.

1.3.1 Epidemiologie, Ätiologie und Diagnosekriterien des ARDS

Die Inzidenz des ARDS wird auf 10% bei intensivstationären Patienten geschätzt. Die Prävalenz bei beatmeten Patienten lag in einigen Studienkohorten sogar bei 23%. Die Ätiologie des ARDS ist vielzählig, wobei sich etwa 40-50% der Erkrankungsfälle auf ein septisches Geschehen und beziehungsweise oder auf eine infektiöse Pneumonie zurückführen lassen. Weitere Ursachen für ein ARDS sind Aspiration und Trauma. Das Risiko für ein ARDS steigt mit prädisponierenden Faktoren, zu denen auch eine bereits vorliegende Organdysfunktion gehört. Zumeist entwickelt sich das ARDS auf Grundlage einer viralen oder bakteriellen Pneumonie, seltener auf Grundlage einer Pilzpneumonie. Im Rahmen des sepsis-assoziierten ARDS sind vor allem Infektionen des Peritoneums, der ableitenden Harnwege sowie Weichteile und Haut zu nennen. Neben Aspiration von Magensaft, oder Inhalt des Ösophagus oder Mundraumes, sind ebenfalls Traumata wie Verbrennungen oder schwere Verletzungen bekannte Ursachen. Quantitativ weniger häufige Ursachen für die Entwicklung eines ARDS sind die akute Pankreatitis, TRALI, Intoxikationen, Beinahe-Ertrinken, hämorrhagischer Schock, Rauchgas Inhalation oder Reperfusionsschäden, zum

Beispiel nach Lungenresektion oder kardiopulmonaren Bypass Operationen. In den vergangenen Jahren wurden diverse Komorbiditäten identifiziert, die mit einer erhöhten Anfälligkeit zur Entwicklung eines ARDS einhergehen. Dazu zählen Alkoholabusus, Zigarettenkonsum, Luftverschmutzung und Hypoalbuminämie [36, 37].

Die diagnostischen Kriterien des ARDS sind ein akuter Beginn, ein $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Index unter 300mmHg, bildmorphologisch bilaterale alveoläre oder interstitielle Infiltrate in der Röntgen-Thorax Aufnahme, sowie ein klinischer Ausschluss einer kardialen Ursache durch linksatriale Hypertension mittels Bestimmung des pulmonal arteriellen Verschlussdruckes ($<18\text{mmHg}$) [3]. In der Berlin Definition von 2012 wurden zunächst drei Schwereformen unterschieden. Patienten mit einer $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ Ratio von 201- 300 mmHg unter einem PEEP von mindestens 5 cmH_2O werden dem milden ARDS zugeordnet. Im Bereich 200-101 mmHg spricht man von moderatem ARDS und bei einer $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ Ratio unter 100 mmHg wird das Syndrom als schwer bezeichnet. 2016 kamen mit der Kigali Modifikation alternative diagnostische Kriterien hinzu. Hierbei werden auch bilaterale Trübungen im Röntgen-Thorax oder via Ultraschall-Untersuchung ausgeschlossene andere Ursachen für Hypoxie mit aufgenommen. Des Weiteren gilt mit den Kigali Modifikationen bereits eine $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ Ratio unter 315 mmHg ohne PEEP als diagnostisches Kriterium. Diese Erweiterung scheint insofern sinnvoll, als dass auch Entwicklungsländer mit dem Krankheitsbild ARDS konfrontiert sind und oftmals nur über eingeschränkte technische Möglichkeiten verfügen [36].

Die Letalität des akuten Atemnotsyndroms ist so variabel wie die Genese und der Verlauf der Erkrankung selbst. Sie wird auf 35% bis 45% geschätzt und verzeichnet in den letzten Jahren vor allem aufgrund von verbesserten intensivmedizinischen Therapiemanagement und Therapieregimen einen Rückgang. Auch die ethnische Herkunft und das Geschlecht scheinen Auswirkungen auf die Mortalität des Krankheitsbildes zu haben. So weisen Forschungsergebnisse größtenteils darauf hin, dass schwarze Hautfarbe und hispanoamerikanische Herkunft, ebenso wie das männliche Geschlecht, mit einer erhöhten Mortalität assoziiert sind. Bei Kindern ist die ARDS Mortalität in Industrieländern in den vergangenen zwei Dekaden weitestgehend stabil geblieben. Pathophysiologie und Risikofaktoren verhalten sich bei Erwachsenen und Kindern ähnlich, wenn auch bei pädiatrischen Patienten mehr als 60% der Syndrome durch Pneumonien verursacht werden [36, 37]. Auf das pädiatrische ARDS, auch als PARDS bezeichnet, wird in dieser Arbeit im Folgenden nicht weiter eingegangen. Es soll jedoch nicht unerwähnt bleiben, dass nicht ausschließlich bei Erwachsenen das ARDS ein schweres und komplikationsreiches Krankheitsbild bleibt, mit einer teilweise hohen Mortalität, dessen kurative Behandlung

zumeist spezialisierten Zentren obliegt. Vor allem die Therapie von Sepsis und Multiorganversagen, welche zusammen in circa 80% der Fälle Ursachen für das Versterben von erwachsenen Patienten mit akutem Atemnotsyndrom darstellen, bleibt im Rahmen des intensivmedizinischen Settings eine Herausforderung und bedarf verbesserter Möglichkeiten um Therapieerfolg und vor allem Misserfolg zu überwachen. Zunehmend im Fokus stehen dabei klinische und biologische Kennzeichen um bestimmte Patienten in Subphänotypen klassifizieren zu können, mit dem Ziel spezifische Therapieoptionen für dieses insgesamt heterogene Krankheitsbild wählen zu können [36, 37].

1.3.2 Pathophysiologie des ARDS

Im Folgenden wird auf die zugrundeliegende Pathophysiologie des ARDS eingegangen. Gesundes Lungengewebe hat die Funktion Kohlenstoffdioxid aus dem Blut zu lösen und es mit Sauerstoff anzureichern. Das kleinste funktionelle Bauteil der gesunden Lunge ist die Alveolar-Kapillar-Einheit. Hier grenzt an das Kapillargefäß ein einschichtiges Epithelgewebe, welches durchzogen ist von diversen Transportmolekülen. Dieser Aufbau ermöglicht es undurchlässig für Flüssigkeiten zu sein und gleichzeitig die Diffusion von Kohlenstoffdioxid und Sauerstoffmolekülen zu erlauben. Es werden zwei Typen Alveolarzellen, also Pneumozyten unterschieden. Typ I Pneumozyten machen dabei die überwiegende Mehrheit aus. Typ II Pneumozyten produzieren das unentbehrliche Surfactant. Eine lipoproteinreiche Flüssigkeit, welche die Oberflächenspannung reduziert und damit ermöglicht, dass die Alveolen geöffnet bleiben für den Prozess des Gasaustausches. Mittels aktiven Iontransportern können sowohl Typ I, als auch Typ II Pneumozyten überschüssige Flüssigkeit aus den luftgefüllten Räumen der distalen Atemwege aufnehmen und so die Entstehung von Ödemen verhindern. Diese überschüssige Flüssigkeit kann anschließend via Interstitium über das lymphatische System abtransportiert werden. In der gesunden Lunge finden sich physiologischer Weise sogenannte Alveolarmakrophagen und in der Regel kaum andere Zellen der Immunabwehr. Diese können jedoch innerhalb kürzester Zeit aus dem zirkulierenden Blut rekrutiert werden [36].

Grundsätzlich unterscheidet man drei klinische Phasen des akuten Lungenversagen: die exsudative, die proliferative und die fibrotische Phase. Die erste Phase, die sogenannte exsudative Phase, beginnt nach der initialen Exposition gegenüber dem Auslöser. Es kommt zur Aktivierung komplexer Kaskaden, welche Inflammationsprozesse generieren und damit

zur Ansammlung von proteinreicher Flüssigkeit führen und sekundär auch Blutungen hervorrufen. Sowohl die endotheliale als auch die epitheliale Barrierefunktion wird dabei gestört. In der zweiten, der proliferativen Phase, beginnt der Regenerierungsprozess, in dem die Barrierefunktionen wiederhergestellt werden. Intraalveoläre Flüssigkeit wird resorbiert und zelluläre Umbau- und Aufbauprozesse beginnen. In der dritten Phase, welche nicht bei allen Patienten eintritt, bildet sich zunehmend fibrotisches Gewebe. Patienten, die diese Phase durchlaufen, haben statistisch betrachtet eine höhere Mortalität und ein erhöhtes Risiko für einen prolongierten Weaningprozess [10].

Die proliferative Phase ist gekennzeichnet durch Schädigung von alveolären Kapillarendothelzellen und Typ-I-Pneumozyten. Histpathologisch imponiert diese Phase mit eosinophilen hyalinen Membranen, welche die Alveolen überziehen. Zudem finden sich zahlreiche Entzündungszellen, vor allem neutrophile Granulozyten, Fibrinablagerungen, intraalveoläre Hämorrhagien sowie atelektatische Areale. Funktionell von besonderer Relevanz sind in dieser Phase Schädigungen am Endothel, durch welche die Barrierefunktion der Alveolar-Kapillar-Einheit teils massiv beeinträchtigt wird. Im Rahmen der dadurch entstehenden Entzündungsreaktion mit neutrophilen Granulozyten kommt es zum alveolären Ödem mit erhöhter vaskulärer Permeabilität und einer gestörten Barrierefunktion des Epithels und Endothels. Es kommt zur vermehrten Migration von Leukozyten. Vor allem neutrophile Granulozyten sezernieren während und nach der Migration pathogen-abwehrende Moleküle wie Proteasen, ROS und sogenannte NET (neutrophil extracellular traps). Sie ermöglichen eine Abwehr der Pathogene, schädigen aber gleichzeitig Endothel und Epithel. Auch die Pathogene selbst schädigen zum Beispiel über Pore-forming toxins (PFT) die Basalmembran. Die Schädigung führt zu weiterer Zellmigration und zur Aggravierung der Ödemeinlagerung. Monozyten können durch die Sekretion von TNF und IFN- β die Apoptose von Zellen des Lungengewebes hervorrufen. Abgestorbene Epithelzellen und aus dem Plasma stammende Proteinaggregate bilden zusammen mit den Proteinen des Surfactant die mikroskopisch imponierenden hyalinen Membranen.

Hinzukommende thromboembolische Geschehen in den Bereichen der Entzündung führen zusätzlich zu fibrozellulärer Proliferation und damit zu einer starken Einschränkung der Diffusion auf kapillar-alveolärer Ebene [29, 36].

Klinisch kommt es in dieser Phase zu bereits oben beschriebenen Atelektasen, einer verringerten Compliance, welche trotz vermehrter Atemarbeit zu Dyspnoe und reduziertem

Gasaustausch führt. Die daraus resultierende Hypoxie und Hyperkapnie machen eine maschinelle Beatmung in Abhängigkeit vom Schweregrad oft unumgänglich [29, 36, 37].

Die zweite Phase, als proliferative Phase bezeichnet, ist gekennzeichnet durch eine beginnende Resorption des alveolären Exsudats und einer Reorganisation auf zellulärer Ebene. Die Reparatur des geschädigten Epithels ist ein wesentlicher Schritt im Rahmen des Genesungsprozesses. Dies geschieht vor allem durch Typ-II-Pneumozyten, die sich im Verlauf zu Typ-I-Pneumozyten ausdifferenzieren. Mit zunehmender Regeneration des Epithels kann ödematöse Flüssigkeit adsorbiert werden. Makrophagen phagozytieren und lysieren Zellreste. Klinisch imponiert diese Phase mit einer ersten Besserung des Gesundheitszustandes und der Möglichkeit der Deeskalation der therapeutischen Maßnahmen.

Bei Patienten mit schweren Verläufen finden sich bereits zu diesem Zeitpunkt vermehrte fibrotische Umbauprozesse [29, 36].

Vermutlich wird im Rahmen der proliferativen Phase zunächst eine provisorische Extrazellulärmatrix errichtet. Hierbei aktivieren und bilden Makrophagen, Fibrozyten, Fibroblasten und Myofibroblasten vermehrt Fibronectin, Collagen I und III. Wenn dieser Prozess begleitet wird von einer unausgewogenen Konzentration an profibrotischen Mediatoren im Vergleich zu antifibrotisch wirksamen Mediatoren, kann sich das Gleichgewicht der Regeneration hin zu einer Fibrosierung verlagern [9]. Diese fibrotische Phase ist eine dritte Phase, in die zumeist Patienten mit protrahierten Verläufen eintreten. Das alveoläre Ödem und die Zellinfiltrationen durch andere Zelltypen schlagen um in eine Fibrose, die sich auf die duktafen und interstitiellen Zellkompartimente ausweitet und die ursprüngliche Architektur durch Emphyseme, Bullae und zystisch-honigwabenartige Strukturen ersetzt. Auch auf vaskulärer Ebene kommt es zu fibrotischen Veränderungen, welche mit der Zeit zu einer zunehmenden pulmonalen Hypertonie führen können. Klinisch zeigen sich eine Erhöhung des Totraumvolumens, eine reduzierte Compliance und in der Gesamtbetrachtung eine deutlich erhöhte Morbidität mit erhöhtem Mortalitätsrisiko [29, 36, 37].

1.3.3 Management und Therapie des ARDS

Die therapeutischen Maßnahmen des ARDS umfassen eine Vielzahl von Optionen im supportiven und ursächlichen Bereich.

Initiales und Allgemeines Management

Einer der wichtigsten Bausteine ist die Identifikation der zugrundeliegenden Ursache beziehungsweise des zugrundeliegenden Risikofaktors des ARDS, welche wie oben beschrieben vielseitig sein können. Das initiale Management bei Verdacht auf ARDS umfasst daher zunächst diverse diagnostische Maßnahmen: Anamnese oder Fremdanamnese, körperliche Untersuchung, bildgebende Untersuchungen, sowie Probengewinnung für mikrobielle Untersuchungen. Trotz der Berlin Kriterien des ARDS wird das Krankheitsbild gemeinhin eher unterdiagnostiziert. Trotz breiter diagnostischer Maßnahmen im Rahmen dieser etablierten Managementkonzepte gibt es bei bis zu 50-60% der ARDS Patienten keinen schlüssigen Nachweis von pathogenen Erregern. Dies kann die resistenzgerechte Wahl der antiinfektiven Therapie potenziell erschweren. Da die zugrunde liegenden Ursachen eines ARDS vor allem aus infektiologischer Sicht vielfältig sein können und den Rahmen dieser Arbeit übersteigen würde, wird hier auf die antiinfektive Therapie nicht spezifisch eingegangen. Wie bereits oben beschrieben ist ein wichtiger Faktor und für das Outcome der Patienten maßgeblich, dass frühzeitig eine kalkulierte und im besten Falle zeitnah resistenzgerechte Anpassung der antiinfektiven Medikation erfolgt.

Zu den evidenzbasierten Therapiemaßnahmen zählen zudem dezidiertes Volumenmanagement, Gabe von pulmonalen Vasodilatoren und Gabe von Glukokortikoiden [36].

Atemtherapie und maschinelle Beatmung

Bereitstellung von Sauerstoff, spezielle Atemtherapien und mechanische Ventilation als supportive Therapieoptionen sind bei dem Großteil der Patienten unentbehrlich. Bei milden Verläufen scheint eine nicht-invasive Atemtherapie (non invasive ventilation = NIV) von Vorteil zu sein. NIV Therapie mit positivem PEEP verbessert nachweislich die Oxygenierung und wird von den meisten Patienten ausreichend toleriert. Forschungsergebnisse von 2015 legen außerdem nahe, dass bestimmte Patientengruppen, nämlich Patienten mit respiratorischer Partialinsuffizienz ohne Decarboxylierungsstörung von einer initialen supportiven Therapie mittels nasalem High-Flow profitieren könnten. Die Intubationsraten

zwischen den einzelnen Gruppen zeigten zwar keine signifikanten Unterschiede, doch die 90-Tages-Mortalität erwies sich als signifikant reduziert in der Gruppe mit nasalem HighFlow [23, 36].

Bei der invasiven Beatmung gilt heute das Konzept der lungenprotektiven Beatmung als evidenzbasiert. Laut der S3-Leitlinie der deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin besteht eine starke Empfehlung für folgende lungenprotektive Beatmungskonzepte bei ARDS: Tidalvolumen von maximal 6ml/kg Standard-Körpergewicht, PEEP von mindestens 5 cmH₂O, Beatmung mit höherem PEEP, möglichst niedriger FiO₂ mit Ziel paO₂ 60-80mmHg, endinspiratorischer Atemwegsdruck < 30 cmH₂O und eine inspiratorische Druckdifferenz (driving pressure) < 15 cmH₂O.

Neben anderen Studien im Jahr 2000, war es eine US-amerikanische Phase III Studie, in der gezeigt werden konnte, dass eine invasive Beatmung mit niedrigen Tidalvolumina von 6ml per Kilogramm Standard-Körpergewicht (dort genannt predicted body weight) den Patienten einen signifikanten Überlebensvorteil einbrachte. Des Weiteren verkürzte sich mit diesem Beatmungskonzept die Beatmungsdauer der Patienten insgesamt. In weiteren Studien wurde die lungenprotektive Beatmung mit einer erhöhten Genesungsrate von extrapulmonalen Organversagen in Verbindung gebracht, sowie einer abgeschwächten systemischen Inflammationsreaktion. Klinisch zu erklären sind diese Ergebnisse durch Lungenanteile, die nicht am Gasaustausch teilnehmen, aufgrund von Konsolidierung mit Ödem, entzündlichen Infiltraten und Atelektasen. Dementsprechend benötigt man für die funktionell Größenreduzierte Lunge, in der englischen Fachliteratur auch als „baby lung“ Phänomen bezeichnet, niedrigere Tidalvolumina um regionale Schädigungen durch Barotraumata und Volumentraumata (auch Volutraumata) zu verhindern. Diese Schädigungen werden auch ventilator associated lung injury (VALI) genannt.

Der Ansatz einen hohen PEEP bei der Beatmung von ARDS Lungen zu nutzen, ist pathophysiologisch damit zu begründen, dass man möglichst viele Alveolen für den Gasaustausch rekrutieren möchte. Diese sogenannte Open-Lung Strategie verhindert Lungenschädigungen durch Atelektraumata und verbessert die Oxygenierung .

Eine erhöhte Sauerstofffraktion (FiO₂) bei der mechanischen Beatmung führt zur Sauerstoffradikalen (ROS) und Resorptionsatelektasen. Bei Patienten mit ARDS ist daher eine möglichst niedrige inspiratorische Sauerstofffraktion bei der invasiven Beatmung anzuwenden. Hohe inspiratorische Beatmungsdrücke können die Entstehung von VALI begünstigen, daher besteht generell die Empfehlung diesen auf maximal 30 cmH₂O zu begrenzen. Dies war in der ARDS Network Studie 2000 ein Merkmal der

Beatmungsparameter der Interventionsgruppe und führte hier zu einem Überlebensvorteil. Ebenso konnten Amato et al. 2015 einen statistisch signifikanten Zusammenhang herstellen, zwischen einem niedrigen driving pressure und einer erhöhten Überlebensrate.

Die Evidenzlage von Rekrutierungsmanövern bei ARDS ist nicht eindeutig. Vermutlich haben kurzzeitige Rekrutierungsmanöver das Potenzial die Oxygenierung zu verbessern [1, 2, 22, 36].

Lagerungstherapie

Als Lagerungstherapie wird bei Patienten mit ARDS primär die Bauchlagerung angestrebt [36]. Die Gründe für die klinische Verbesserung der Patienten unter Lagerungstherapie sind vielfältig. Zum einen werden in Rückenlage die Lungen durch Gewicht von Herz und abdominellen Organen komprimiert. Bei verringerter Kompression in Bauchlage können so atelektatische Bereiche rekrutiert werden und wieder vermehrt am Gasaustausch teilnehmen. Außerdem zeigen Untersuchungsergebnisse wie zum Beispiel von Prisk et al., dass die Bauchlagerung zu einer verbesserten Lungenperfusion beitragen kann. Häufig zeigen Patienten mit ARDS ein sogenanntes Ventilations-Perfusions-Mismatch, dieses verursacht einen intrapulmonalen Rechts-Links-Shunt. Dies bedeutet, dass gut belüftete Lungenareale schlecht durchblutet sind und vice versa. Die Lagerungstherapie verbessert dieses Ventilations-Perfusions-Mismatch durch die oben genannten Mechanismen. Auch PEEP und transpulmonale Drücke können in der Bauchlage gleichmäßiger verteilt werden. Nicht selten können im Rahmen der Lagerungstherapie sogar die Drucklevel der Beatmung deeskaliert werden und so zu einem verringerten Risiko für VALI führen. Bei einigen Patienten kann die Bauchlagerung auch zu einer verringerten Rechts-Herz-Belastung führen, in dem der Widerstand im pulmonalen Kreislauf sinkt. Zudem kann in Bauchlagerung die intrapulmonale Sekretlast sinken, da die Drainierung über Mund und Nase entlang der Schwerkraft erleichtert wird. Insgesamt erlaubt die Evidenz zum Effekt der Bauchlagerung auf die Sterblichkeit bei ARDS seit der multizentrischen PROSEVA Studie mittlerweile eine recht eindeutige Empfehlung diese therapeutische Maßnahme frühzeitig zu etablieren. Es wird eine Dauer der Bauchlage von mindestens 16 Stunden täglich empfohlen, analog zum Interventionsprotokoll der PROSEVA Studie [26, 36, 44]. Zuvor überwiegend den invasiv beatmeten und analgosedierten ARDS Fällen vorbehalten, spielt mittlerweile auch die Bauchlagerung bei wachen, spontanatmenden Patienten eine Rolle [57].

Extrakorporale Verfahren

Die extrakorporalen Verfahren sind aufgrund ihrer potenziellen Risiken zumeist Patienten mit schweren ARDS Verläufen vorbehalten. Es können drei verschiedene Verfahren unterschieden werden. Die veno-venöse extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO), die veno-arterielle ECMO, und die extrakorporale CO₂ Elimination (ECCO₂R = extracorporeal carbon dioxide removal). Die veno-arterielle ECMO findet klassischerweise eher selten Anwendung beim ARDS. Die extrakorporale CO₂ Elimination hat in den vergangenen Jahren wieder zunehmend Aufmerksamkeit auf sich gezogen. Die stetige Weiterentwicklung dieser Technik ermöglicht mittlerweile eine Reduktion der CO₂ Konzentration um bis zu 70% des insgesamt produzierten CO₂, trotz niedrigen Flussraten. Die ECCO₂R könnte eine Option darstellen für Patienten mit führender Partialinsuffizienz die unter lungenprotektiver Beatmung weiterhin schwer hyperkapnisch und azidotisch sind. Derzeit fehlen jedoch randomisierte Studien, um eine Evidenzlage für diese Therapie zu definieren. In spezialisierten Zentren ist die veno-venöse ECMO heutzutage fest etabliert im Management des schweren ARDS. Die Datenlage zur v-v ECMO Therapie ist nichtsdestotrotz ausbaufähig. Die bislang größte randomisierte Studie, EOLIA, konnte zwar eine Reduktion der 60-Tages-Mortalität in der ECMO Gruppe nachweisen, jedoch war diese statistisch nicht signifikant. Am meisten scheinen Patienten von einer ECMO zu profitieren, die an einem sehr schweren ARDS leiden, unter lungenprotektiver Beatmung weiterhin therapieresistente pH Entgleisungen aufweisen, zum Zeitpunkt des ECMO Anschlusses kein Multiorganversagen haben, sowie weniger als 7 Tage auf der Intensivstation behandelt und mechanisch beatmet werden. Der Benefit dieser Patienten ist vermutlich die unter ECMO Therapie verringerte Inzidenz von VALI. Allgemeinhin gilt, dass eine ECMO Therapie die lungenprotektive Beatmung und Bauchlagerung nicht ersetzen, sondern maximal ergänzen soll [12, 36].

2 Fragestellung

Bereits Mitte des 20. Jahrhundert wurde das Vorhandensein von Erythroblasten im peripheren Blut mit einer schlechten Prognose für den Patienten in Verbindung gebracht. Die These, basierend auf Beobachtungen und einzelnen Fallbeschreibungen, es bestehe ein Zusammenhang zwischen ihrer Nachweisbarkeit und einer hypoxischen Stoffwechselsituation, wurde zwar schon damals aufgestellt, doch mangelt es bis heute qualitativ und quantitativ an evidenzbasierten Studien, um diese zu untermauern [25, 48]. Ein statistischer Zusammenhang zwischen NRBC und einer erhöhten Mortalität sowohl bei kritisch kranken Neonaten, als auch bei kritisch kranken Erwachsenen, konnte mehrfach nachgewiesen werden. Den etablierten Erklärungsansätzen für einen möglichen Pathomechanismus dieser Vorgänge fehlt eine Validierung durch weitere wissenschaftliche Studien [13, 18, 33, 40, 51–53, 55]. Vor allem die Theorie, dass die Genese dieser Zellmigration, auch einer hypoxischen Ursache zugrunde liegen könnte, bedarf weiterer beweisender Ergebnisse durch klinische Studien. Des Weiteren ist das ARDS nach wie vor ein Krankheitssyndrom, mit hoher Mortalität, dessen Verlauf auch für erfahrene Intensivmediziner schwer einschätzbar ist [43]. Die angegebenen Sterblichkeitsraten und Daten bezüglich Outcome variieren von Literatur zu Literatur erheblich, was die Optimierungswürdigkeit eines verbesserten Scoring Systems für besonders kritisch kranke Patienten offensichtlich macht [4]. Diese Untersuchung soll retrospektiv feststellen, ob bei Patienten mit dem Krankheitsbild Acute Respiratory Distress Syndrome, denen per definitionem ein respiratorisches Versagen gemein ist, Erythroblasten im peripheren Blut als unabhängiger prädiktiver Wert für die Mortalität zur Verfügung stehen [3].

In diesem Rahmen sollen folgende Fragen beantwortet werden:

- I. Gibt es einen Zusammenhang zwischen Höhe der Mortalität und Höhe der Anzahl von NRBC im peripheren Blut bei Patienten mit respiratorischer Insuffizienz auf Grundlage eines ARDS?
- II. Sind Erythroblasten im peripheren Blut ein möglicher unabhängiger prognostischer Parameter für das Outcome von Patienten mit ARDS?

3 Methodik

3.1 Studiendesign

Bei der vorliegenden naturwissenschaftlichen Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Observationsstudie. Alle Patienten wurden in den Jahren von 2007 bis 2013 auf der Intensivstation 8i der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin der Charité Universitätsmedizin Berlin, Standort Campus Virchow Klinikum behandelt. Es handelt sich um ein nationales Schwerpunkt Zentrum des Acute Respiratory Distress Syndrome mit hoher Spezialisierung auf extrakorporale Membranoxygenierung. Das Zentrum ist Mitglied des deutschen ARDS-Netzwerkes. Alle Daten wurden aus den elektronischen Patientenakten der Patientendatenmanagementsysteme COPRA® (Sasbachwalden, Germany) und SAP® (Walldorf, Germany) erhoben. Die Nutzung der Patientendaten, sowie die Durchführung der Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin bewilligt (EA2/172/17).

3.2 Patienten und Datenerhebung

Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten litten am Krankheitsbild ARDS und wurden zwischen dem 1. Januar 2007 und dem 31. Dezember 2013 auf der Station behandelt. Die im Zentrum aufgenommenen Patienten sind vorrangig Übernahmen aus externen Krankenhäusern, die die angemessene intensivmedizinische Versorgung dieses Krankheitsbildes aus logistischen und personellen Gründen nicht leisten konnten. In der Regel erfolgt eine Kontaktaufnahme der Kliniken über die ARDS Hotline der Charité Universitätsmedizin. Die Übernahme der Patienten aus der gesamten Bundesrepublik und seltener auch international erfolgt durch das Team der Station 8i mittels Hubschraubertransport sowie im Großraum Berlin mittels bodengebundenem Intensivtransport. Bei Erstaufnahme der Patienten werden frühestmöglich diverse standardisierte diagnostische Schritte eingeleitet. Auf Grundlage der erhobenen Daten wurde der Schweregrad des Lungenversagens anhand der gängigen Fachempfehlung der Berlin Definition in mild, moderat und schwer unterteilt [3].

Die Behandlung des ARDS erfolgte auf Grundlage der standardisierten Therapieschemata auf der Station 8i. Zu möglichen therapeutischen Interventionen gehören hierbei die intermittierende Bauchlagerung, die Inhalation von Stickstoffmonoxid (NO) und der Anschluss an die extrakorporale Membranoxygenierung (ECMO) oder die pumpenlose extrakorporale Membranoxygenierung (pECLA), eine Form der ECCO₂R, als Organersatzverfahren [17].

Nicht eingeschlossen wurden minderjährige Patienten, Patienten, die nach bereits erfolgter Verlegung wieder auf die Station aufgenommen wurden, sowie Patienten, die nach weniger als 24 Stunden Aufenthalt auf der Station verstarben. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Patienten, für die es keine verwertbaren Daten zur Konzentration der Erythroblasten im peripheren Blut gab.

Das Auslesen der Daten aus den oben genannten Patientendatenmanagementsystem erfolgte mittels „Structured-Query-Language“ (SQL) Abfrage und der Erstellung einer SPSS Statistics® basierten Datenbank.

Neben anamnestisch herangezogenen Informationen der Patienten, wie Geschlecht, Alter, Körpergröße und Körpergewicht werden vor allem intensivmedizinische Bewertungssysteme angewandt, um die Patienten klinisch zu klassifizieren (APACHE II, SAPS II, SOFA, TISS-28 Scores). Außerdem erfolgte die oben genannte Unterteilung nach Schweregrad des ARDS. Die zum Krankheitsbild führenden Ursachen wurden nach Auslesung der Daten in Pneumonie, Sepsis mit extrapulmonaler Ursache, Trauma, Immundefizienzsyndrome und „acute-on-chronic“ unterteilt. Letztere Kategorie umfasst hierbei Patienten, die an einer chronischen Grunderkrankung leiden, welcher eine akute Verschlechterung folgt, wie zum Beispiel Patienten mit COPD und akut exazerbierter pulmonaler Infektion. Mit Aufnahme auf die Intensivstation erfolgte auch die Erhebung der Parameter für den pulmonalen Gasaustausch wie den arteriellen Sauerstoffpartialdruck (PaO₂), die Daten der mechanischen Ventilation wie Beatmungsspitzen- (P_{peak}), Beatmungsmitteldruck (P_{mean}), positiver endexpiratorischer Druck (PEEP), inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO₂), sowie die pulmonale Compliance. Art und retrospektive Dauer der extrakorporalen Lungenersatzverfahren (ECMO oder pECLA) wurden für die statistische Analyse ebenso herangezogen, wie Dauer der mechanischen Beatmung, Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation und Gesamtmortalität. Die verschiedenen Patientenpopulationen wurden anhand aller aufgeführten Daten charakterisiert und differenziert.

3.3 Laboruntersuchungen

Alle Patienten erhielten regelmäßige Blutentnahmen, mindesten einmal täglich, bis zu ihrer Verlegung oder ihrem Tode. Die Anzahl der Erythroblasten im peripheren Blut wurde während des gesamten betrachteten Zeitraumes der Studie durch Fluoreszenz-Durchflusszytometrie mittels Sysmex XN-9000 (Sysmex, Kobe, Japan) analysiert. Die Anzahl der NRBC wurden in der Einheit Zellen je Mikroliter [(n)/ μ l] quantifiziert. Mittels fluoreszierender Farbstoffe können die Erythroblasten im Falle der Sysmex XN Modulserien direkt im Kanal für kernhaltige Leukozyten gezählt werden. Dies erhöht die Genauigkeit der Messung, da eine sogenannte Leukozyten Zählkorrektur umgangen werden kann. In dieser Untersuchung muss bei Vorhandensein von Erythroblasten die Zählung der kernhaltigen Leukozyten korrigiert werden, da auch die Erythroblasten aufgrund ihres Zellkernes als weiße Blutkörperchen quantifiziert werden. Im Korrekturverfahren werden deshalb mikroskopisch die Erythroblasten ausgezählt und nach prozentualer Gegenrechnung die Werte für Erythroblasten, Lymphozyten und Granulozyten korrigiert. Bei der vom Kooperationslabor der Charité angewandten direkten Bestimmung der NRBC, ist dieser Schritt hinfällig und die Messung daher äußerst präzise [15]. Waren bei Patienten mehrere Messungen an einem Tag vorhanden, zogen wir für unsere Auswertung den höchsten Wert des Tages heran. Dieser Wert wurde auch für die statistischen Analysen ROC, Cox-Regressionsanalyse und Gesamtüberlebenszeit verwendet. Für die binäre Analyse und Einteilung der Patienten in NRBC-positiv und NRBC-negativ wurde jeder Wert über Null zu jeder Zeit des Aufenthaltes auf Station als NRBC-positiv gewertet.

3.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Analyse wurden diskrete Variablen in absoluten Zahlen sowie Prozent angegeben, während stetige Variablen als Medianwert und als Interquartilsabstand (IQR) zwischen dem 25. und 75. Perzentil aufgeführt sind. Statistische Unterschiede zwischen Patientendaten und den einzelnen Gruppen wurden mittels exaktem Test nach Fisher für kategorische Variablen und Mann-Whitney-U-Test für stetige Variablen, soweit dies angemessen war, beurteilt. Der prädiktive Wert der Erythroblasten im peripheren Blut für die Mortalität wurde mittels receiver operator curve (ROC) berechnet. Im Zusammenhang stehende Untersuchungsergebnisse wurden als bestimmtes Integral mittels area under the

curve (AUC) dargestellt. Aus diesen Daten konnte ein Cut-off Wert für Sterblichkeit auf Grundlage der Höhe der NRBC im peripheren Blut anhand Youden-Index etabliert werden. Hierbei wurde die höchste Summe aus Sensitivität und Spezifität für die Berechnung herangezogen. Auf dieser Grundlage konnten die Patienten in die zwei Gruppen, nämlich über und unterhalb des berechneten Cut-off Wertes (220 NRBC/ μ l) separiert werden. Die im Anschluss durchgeführte multiple logistische Regressionsanalyse (MLR) mit schrittweiser Rückwärtsanalyse (stepwise backward selection) konnte unabhängige Parameter herausfiltern, die in Zusammenhang mit der Höhe der Mortalität der Patienten stehen. Die Überlebenszeitdifferenz der verschiedenen Gruppen, nämlich über und unter Cut-off Wert, wurde mittels Log-Rank Analyse berechnet und als Kaplan-Meier Kurve dargestellt. Um mehrdimensional Faktoren bestimmen zu können, welche die Überlebenszeit beeinflussen kombinierten wir eine Cox Regressionsanalyse mit schrittweiser Rückwärtsanalyse. In diesem Rechenschritt wurden ebenfalls Variablen eingeschlossen die bereits in der univariaten Analyse eine statistische Signifikanz zeigten. Eine Auswertung mit zweifaktoriellem Design, bei der, der erste Faktor „Gruppe“ als unabhängig, wie zuvor determiniert, und der zweite Faktor „Zeit“ als abhängig gesetzt wurde, wurde als nicht-parametrisches Verfahren für longitudinale Daten für den gesamten Zeitverlauf durchgeführt. Die dabei gewonnenen Ergebnisse sind als relative Effektgröße angegeben. Diese relative Effektgröße präsentiert sich als spezifischer Behandlungseffekt der betrachteten Gruppe, jedoch anwendbar auf alle Gruppen, sodass von einem durchschnittlichen Behandlungseffekt ausgegangen wird. Alle statistischen Analysen wurden mit IBM SPSS Statistics, Version 24 (SPSS, Chicago, IL, USA), The R Project for Statistical Computing, Version 3.4.0 (2017-04-21), Copyright © The R Foundation for Statistical Computing, sowie GraphPad PRISM Version 7 (San Diego, CA, USA) durchgeführt. Als statistisch signifikant wurde jeder two-tailed p-value unter 0.05 gewertet. Alle Tests können als explorative Datenanalyse verstanden werden, insofern, als dass keine Anpassungen für multiple Testungen vorgenommen wurden.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

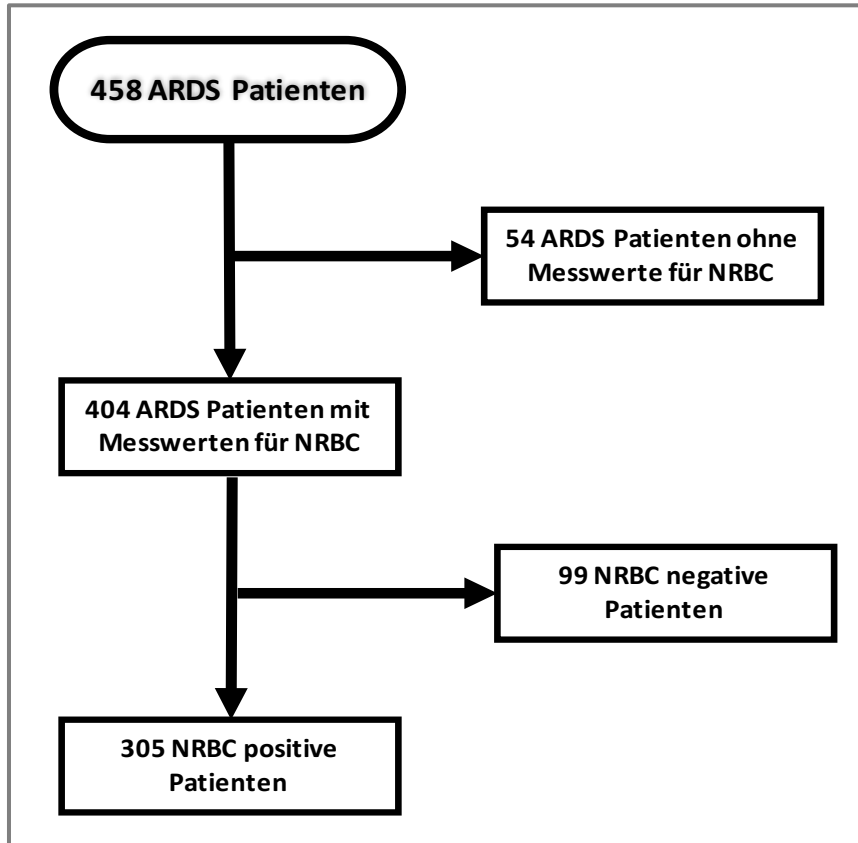


Abbildung 2

Flussdiagramm des Patientenkollektivs mit Ein- und Ausschlusskriterien in Bezug auf Messwerte der Erythroblasten

Von 458 Patienten, mit der gesicherten Diagnose ARDS, welche von Januar 2007 bis Dezember 2013 auf der Station 8i im Virchow Klinikum der Charité behandelt wurden, mussten 54 Patienten aufgrund von nicht vorhandenen Messwerten für Erythroblasten im peripheren Blut ausgeschlossen werden. Von den verbleibenden 404 Patienten wurden 99 (24,5%) Patienten als NRBC negativ klassifiziert, da sie zu keinem Zeitpunkt der Messungen einen Nachweis von Erythroblasten im peripheren Blut hatten. Die Mehrzahl, nämlich 305 (75,5%) Patienten, wurden als NRBC positiv klassifiziert, da bei ihnen Erythroblasten im Laufe ihres intensivstationären Aufenthaltes nachweisbar waren. Die Wahl dieser Art von Klassifikation impliziert, dass Patienten die NRBC positiv waren, es für den restlichen Aufenthalt auf der Intensivstation per definitionem in dieser Studie auch blieben und alle

weiterhin beobachteten Parameter auf Grundlage dieser Klassifikation ausgewertet wurden. Bei den NRBC positiven Patienten verstarben im Laufe ihres Aufenthaltes 155 Patienten (50,8%), wohingegen in der Gruppe der NRBC negativen 27 Patienten verstarben (27,3%). Die Mortalitätsdifferenz zwischen beiden Gruppen ist damit mit einem p von $<0,0001$ statistisch signifikant.

Patienten mit Erythroblasten im peripheren Blut litten außerdem häufiger an einem schweren ARDS nach der Berlin Definition [3]. Dies war für diese Gruppe statistisch signifikant einhergehend mit einer erniedrigten pulmonalen Compliance, einer länger anhaltenden Dauer der Notwendigkeit der mechanischen Beatmung, sowie mit einer verlängerten Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation. Statistisch nicht signifikant waren hingegen die Parameter der mechanischen Beatmung (Spitzendruck, Mitteldruck, PEEP, Druckamplitude, Tidalvolumen, inspiratorische Sauerstofffraktion) sowie die gemittelten Werte des pulmonalen Gasaustausches der Patienten (PaO_2 , PaCO_2 , $\text{PaO}_2\text{-FiO}_2\text{-Ratio}$, Oxygenierungsindex). Bei Betrachtung des Alters, des BMI und der Ätiologie des ARDS gab es zwischen beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Im Median waren die eingeschlossenen Patienten 49 Jahre alt, sowohl in der Gruppe NRBC positiv als auch in der Gruppe NRBC negativ. Der mediane BMI betrug bei NRBC positiven Patienten 26,2 und bei NRBC negativen Patienten 26,5. Bezüglich der Ätiologie wurden verschiedene Genesen unterschieden. Ein ARDS auf Grundlage einer Pneumonie wurden bei 55,1% der Patienten mit Erythroblasten und bei 53,5% der Patienten ohne Erythroblasten diagnostiziert. Die Pneumonie war auch insgesamt die häufigste Ursache für das ARDS. 6,6% der NRBC positiven Patienten und 5,1% der NRBC negativen Patienten erkrankten an einem ARDS als Komplikation einer bestehenden Sepsis. Ein durch Immundefizit hervorgerufenen ARDS, wie beispielsweise bei HIV-positiven Patienten mit atypischer Pneumonie, lag bei 15,4% der NRBC positiven und bei 14,1% der NRBC negativen Patienten vor. Patienten mit chronischen Erkrankungen, die an einer akuten Infektexazerbation erkrankten, in dieser Studie als „acute-on-chronic“ klassifiziert, waren ebenfalls in beiden Gruppen gleichermaßen vertreten (11,5% NRBC positiv, 11,1% NRBC negativ). Ein durch Trauma verursachtes ARDS fand sich bei 5,9% der NRBC positiven Patienten und bei 8,1% der NRBC negativen Patienten. Auch diese Werte waren statistisch nicht signifikant. Alle weiteren Ätiogenesen des ARDS wurden in der Kategorie Sonstiges zusammengefasst. Hierunter wurden unter anderem Patienten mit pulmonalen Blutungen, Malignität, Pankreatitis-assoziiertem ARDS, Transplantatversagen, idiopathischer Genese und Goodpasture-Syndrom eingeordnet. In dieser Gruppe waren 11 Patienten (3,6%) NRBC positiv und 3 (3%) NRBC negativ. Somit gab es insgesamt keinen

statistisch haltbaren Hinweis darauf, dass eine bestimmte Ätiogenese des ARDS mit dem Auftauchen von Erythroblasten im peripheren Blut assoziiert war.

Es wurden insgesamt mehr männliche Patienten eingeschlossen (n= 265; 65,6%) als weibliche (n=139; 34,4%). In der Gruppe der NRBC positiven Patienten waren 191 Patienten männlich und 114 Patienten weiblich (62,6%; 37,4%). In der Gruppe der NRBC negativen Patienten waren es 74 männliche und 25 weibliche Patienten (74,7%; 25,3%). Damit ist das männliche Geschlecht aus statistischer Sicht ein protektiver Faktor für das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut. Auch in Bezug auf die Notwendigkeit der Implantation einer extrakorporalen Lungenunterstützung, wies die Gruppe der NRBC positiven Patienten ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko auf.

Patientenkollektiv mit Vergleich von NRBC positiven und NRBC negativen ARDS Patienten				
	alle (n=404)	NRBC positiv (n=305; 75.5%)	NRBC negativ (n=99; 24.5%)	p-Wert
allgemeine Merkmale				
Alter [Jahre]	50 (37;61)	49 (38;61.5)	49 (33;60)	n.s.
Geschlecht (männlich) [n]	265 (65.6%)	191 (62.6%)	74 (74.7%)	<0.05*
Body Mass Index [kg/m ²]	26.2 (23.3;30.8)	26.2 (23.3;30)	26.5 (23.4;31.9)	n.s.
Scores bei ITS				
Aufnahme				
SAPS II	55 (39;70)	56 (40;71)	53 (36.5;66)	n.s.
APACHE II	27 (20;35)	29 (21;36)	25.5 (19;33)	<0.05*
SOFA II	12 (9;15)	12 (9;15)	11 (8;13)	<0.001***
TISS-28	51 (43;58)	51 (43;58)	50 (43;56)	n.s.
ARDS Schweregrad				
mild [n]	12 (3%)	7 (2.3%)	5 (5.1%)	n.s.
moderat [n]	174 (43.1%)	123 (40.3%)	51 (51.5%)	<0.05*
schwer [n]	207 (51.2%)	168 (55.1%)	39 (39.4%)	<0.05*
pulmonaler Gasaustausch und Beatmungsparameter bei ITS-Aufnahme				
Ppeak [cm H ₂ O]	35 (32;39)	35 (32;39)	34 (31;38)	n.s.
Pmean [cm H ₂ O]	24 (21;28)	24 (21.5;28)	23.4 (21;27)	n.s.
PEEP [cm H ₂ O]	17 (15;20)	17 (15;20)	16.7 (15;20)	n.s.
Delta P [cm H ₂ O]	18 (14.7;21.6)	18 (14.7;21.2)	18.7 (15;22)	n.s.
Tidalvolumen/PBW [ml/kg]	5.9 (4.7;7.4)	5.8 (4.3;7.2)	6.75 (5.2;7.9)	n.s.
FiO ₂	93 (70;100)	93 (70;100)	91.5 (70;100)	n.s.
PaO ₂ [mmHg]	135 (111;170)	136 (113;179)	123 (108;165)	n.s.
PaCO ₂ [mmHg]	52 (42; 64)	52 (43;63.2)	53.3 (41.8;67.7)	n.s.
PaO ₂ / FiO ₂	163 (126; 204)	165 (135;225)	139 (116;183)	n.s.
OI	17.5 (11.8;29.1)	17.6 (12;28.9)	17.1 (11; 29.4)	n.s.
pulmonale Compliance [ml/cmH ₂ O]	28.4 (19.4;40.7)	26.55 (17.5;38.3)	34.1 (24.7;44.1)	<0.001***
mechanische Beatmung [Stunden]	448 (193;743)	484 (242;825)	308 (154;527.25)	<0.001***
Dauer des ITS Aufenthaltes [Tage]	20 (10;35)	22 (11;38.5)	14 (7;26)	<0.05*
Ätiologie des ARDS				
Pneumonie [n; %]	221 (54.7%)	168 (55.1%)	53 (53.5%)	n.s.
Sepsis [n; %]	25 (6.2%)	20 (6.6%)	5 (5.1%)	n.s.
Immundefizienz [n; %]	61 (15.1%)	47 (15.4%)	14 (14.1%)	n.s.
akut-auf-chronisch [n; %]	46 (11.4%)	35 (11.5%)	11 (11.1%)	n.s.
Trauma [n; %]	26 (6.4%)	18 (5.9%)	8 (8.1%)	n.s.
Sonstige [n; %]	14 (3.5%)	11 (3.6%)	3 (3%)	n.s.
extrakorporale Organersatzverfahren				
ECLS [n; %]	231 (57.2%)	192 (63%)	39 (39.4%)	<0.001***
pECLA [n; %]	107 (26.5%)	79 (25.9%)	28 (28.3%)	n.s.
ECMO [n; %]	156 (38.6%)	143 (46.9%)	13 (13.1%)	<0.001***
ECMO & pECLA [n; %]	32 (7.9%)	30 (9.8%)	2 (2%)	<0.001***
ITS Mortalität	182 (45%)	155 (50.8%)	27 (27.3%)	<0.001***

NRBC = Erythroblasten; SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II; APACHE II = Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II; SOFA = Sequential Organ Failure Assessment; TISS Therapeutic Intervention Scoring System; ARDS Schweregrad gemäß Berlin-Definition; Ppeak = inspiratorischer Spitzendruck; Pmean = mittlerer Atemwegsdruck; PEEP = positiver endexpiratorischer Druck; delta P = driving pressure*; PBW = predicted body weight*; FiO₂ = inspiratorische Sauerstofffraktion; PaO₂ = arterieller Sauerstoffpartialdruck; PaCO₂ = arterieller Kohlenstoffdioxidpartialdruck; OI = Oxygenierungsindex (FiO₂ / PaO₂ x Pmean); ITS = Intensivstation; ECLS = extrakorporale Lungenunterstützung; pECLA = pumpenlose extrakorporale Lungenunterstützung; ECMO = extrakorporale Membranoxygenierung

Tabelle 1

Übersicht der Charakteristika des Patientenkollektivs, unterschieden in NRBC negativ und positiv in Bezug auf allgemeine Merkmale, ITS Aufnahme Scores, ARDS Schweregrad, pulmonaler Gasaustausch und Beatmungsparameter, ARDS Ätiologie, extrakorporale Verfahren und ITS Mortalität.

- Diskrete Variablen werden als absolute, Durchschnittszahlen oder in Prozent angegeben, die Analyse erfolgte mittels exaktem Fisher-Test für unabhängige Gruppen
- Kontinuierliche Variablen werden als Median (25; 75) und Perzentile dargestellt; die Analyse erfolgte mittels Mann-Whitney-Test für unabhängige Gruppen

* p<0.05 ***p<0.001

4.2 Konzentrationsmaxima der Erythroblasten und Entwicklung der Konzentration über den Behandlungszeitraum

Die Höhe der Konzentration der Erythroblasten im peripheren Blut korrelierte in der retrospektiven Betrachtung mit mehreren Faktoren. Hohe NRBC Konzentrationen waren bei den ARDS Patienten vergesellschaftet mit einem erhöhten Risiko für Versterben und einem schweren ARDS laut Berlin Definition (vgl. Abbildung 3A + 6), (überlebende Patienten: 60 (0;270)/ μl ; verstorbene Patienten: 450 (75;26000)/ μl ; $p < 0.001$). Des Weiteren hatten Patienten die laut Berlin Definition an einem schweren ARDS litten, statistisch signifikant höhere NRBC Konzentrationen im peripheren Blut als Patienten mit mildem oder moderatem ARDS (vgl. Abbildung 3B + 7), (mildes ARDS: 45 (0; 280)/ μl ; moderates ARDS: 110 (0; 592)/ μl ; schweres ARDS: 210 (30; 1140)/ μl ; $p < 0.05$).

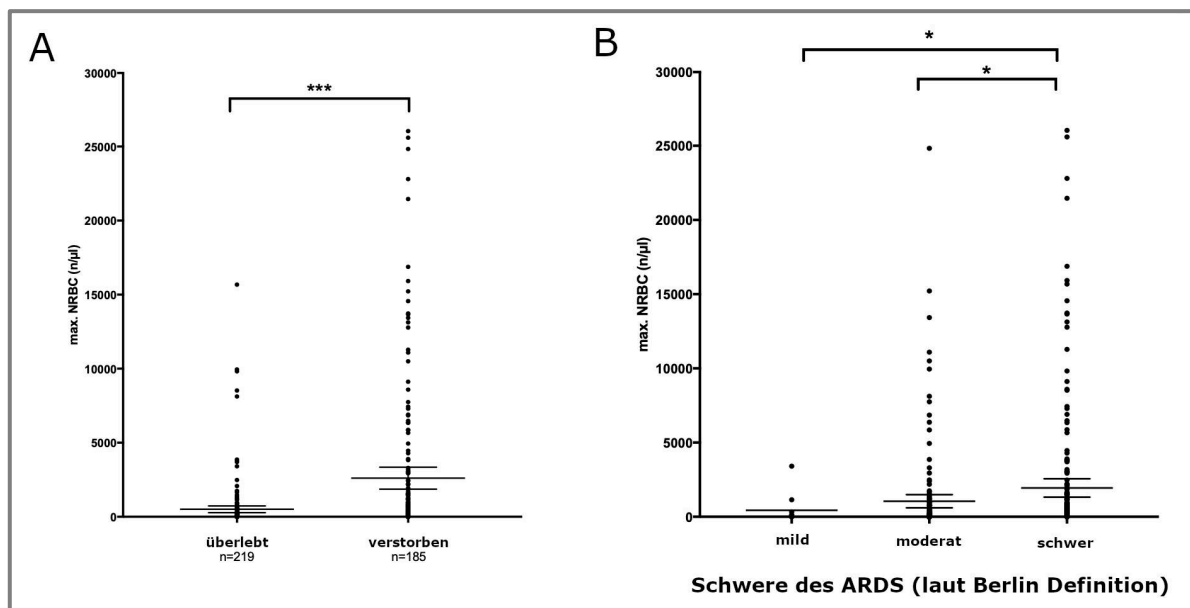


Abbildung 3

Maximale Konzentrationen der Erythroblasten (NRBC) im peripheren Blut bei ARDS Patienten in Abhängigkeit von

- (A) Überleben versus Versterben
- (B) Schweregrad des ARDS laut Berlin Definition (mild, moderat, schwer)

$n=404$; Mann-Whitney Test; * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$

Nicht nur die ersten 30 Tage während der intensivmedizinischen Behandlung wiesen die Patienten, die schließlich verstarben, höhere Konzentrationen von Erythroblasten im peripheren Blut auf ($p < 0.001$), sondern signifikant war auch, dass die Konzentrationen bei überlebenden Patienten während der Dauer der Behandlung wieder sanken (vgl. Abbildung 5, blaue Linien, $p < 0.001$). In der Gruppe der verstorbenen Patienten hingegen gab es keine statistisch signifikanten Änderungen der Konzentrationen (vgl. Abbildung 5, rote Linien, $p = 0.42$). Patienten, die das ARDS überlebten, hatten statistisch betrachtet ein früheres Maximum der NRBC Konzentration erreicht. Dies steht im statistisch signifikanten Unterschied zur Gruppe der verstorbenen Patienten. Bei diesen traten im Median die Konzentrationsmaxima der NRBC später auf (Überlebende: 5 (3;9) Tage; Verstorbene: 7 (3,17) Tage; $p = 0.08$). Des Weiteren korrelierten die Konzentrationen mit dem Schweregrad des ARDS: Patienten mit einem milden ARDS wiesen bereits nach kurzer Zeit keine Erythroblasten im peripheren Blut mehr auf (vgl. Abbildung 7). Bei moderaten und schweren Krankheitsbildern hingegen verlief die Konzentrationsabnahme deutlich langsamer und zumeist waren die Zellen während der gesamten Behandlung im peripheren Blut detektierbar. Zwischen den Patienten mit moderatem und schwerem ARDS gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede (vgl. Abbildung 3B). Die höchsten nachgewiesenen Konzentrationen von Erythroblasten im peripheren Blut, ließen sich bei Patienten mit moderatem und schwerem ARDS nachweisen. Eben jene Patienten, überlebten die Erkrankung signifikant seltener (vgl. Abbildung 3A, B).

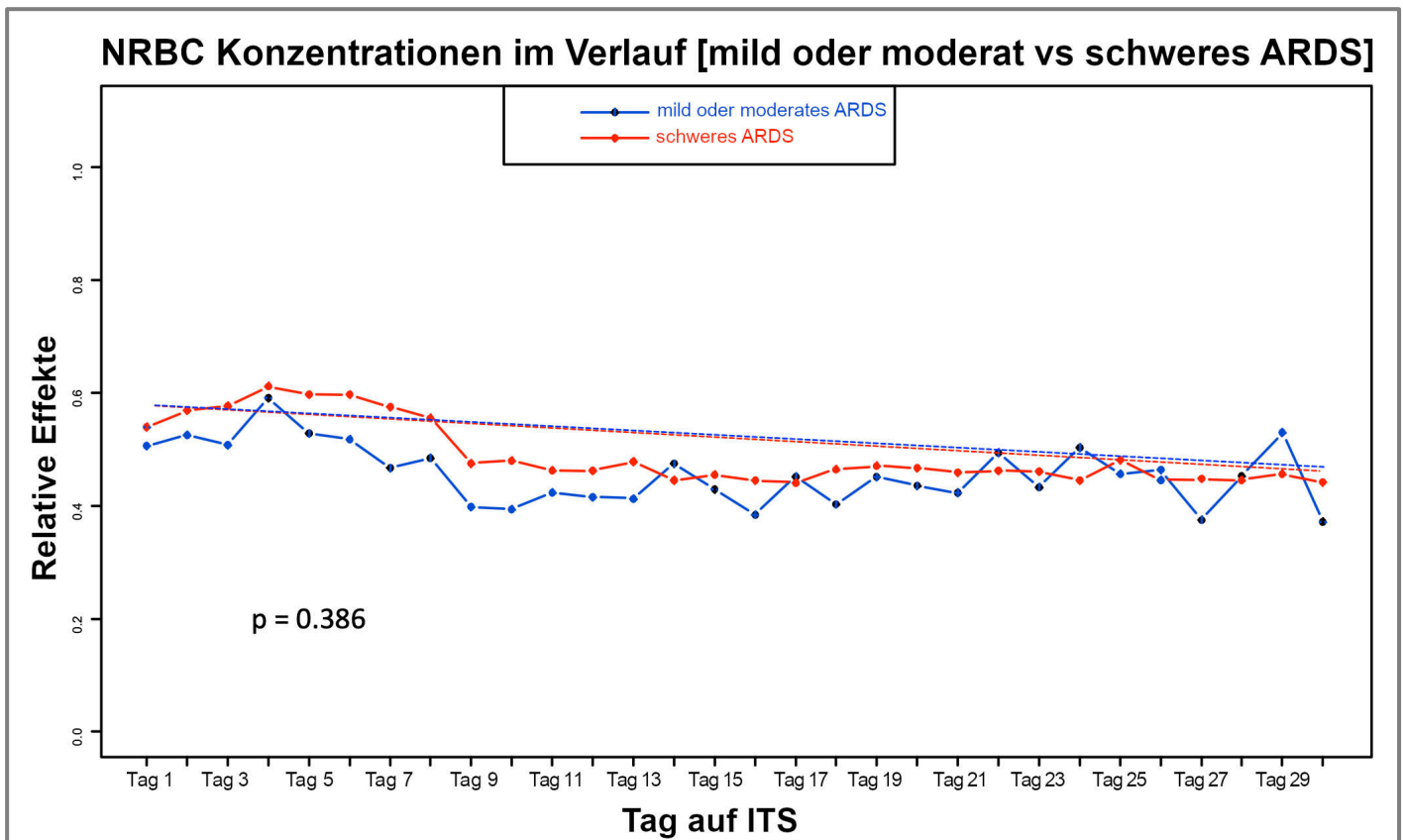


Abbildung 4

Entwicklung der Konzentration der Erythroblasten über die ersten 30 Tage auf Intensivstation bei

- Schwerem ARDS (durchgängige rote Linie, gestrichelte Linie stellt den Trend dar)
- Mild und moderatem ARDS (durchgängige blaue Linie, gestrichelte Linie stellt den Trend dar)

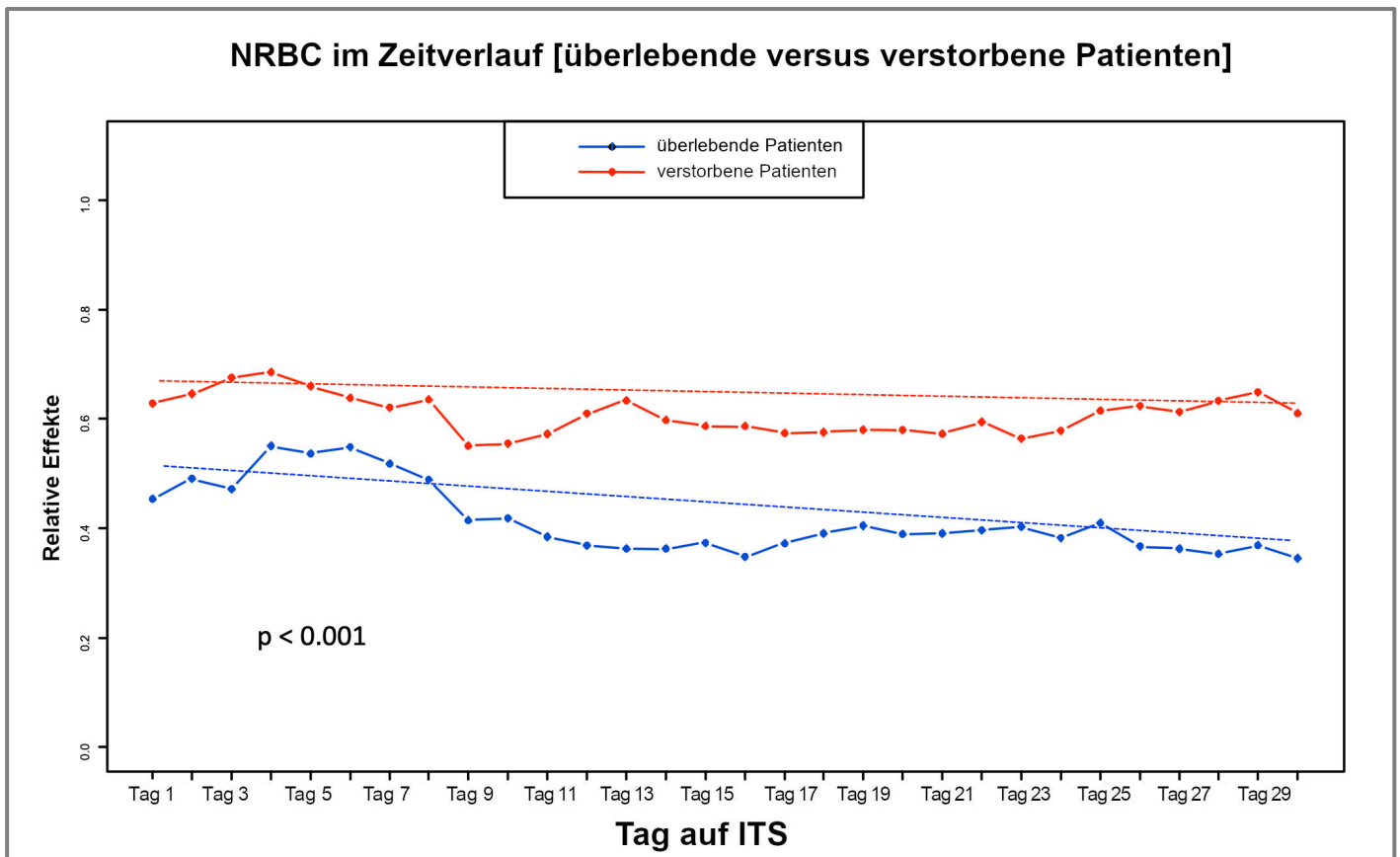


Abbildung 5

Entwicklung der Konzentration der Erythroblasten bei ARDS über die ersten 30 Tage auf Intensivstation bei

- verstorbene Patienten (durchgängige rote Linie, gestrichelte Linie stellt den Trend dar)
- überlebende Patienten (durchgängige blaue Linie, gestrichelte Linie stellt den Trend dar)

Abbildung 4 und 5

Der relative Effekt (auf einer Scala zwischen 0 und 1 und nach Wahrscheinlichkeit) stellt den spezifischen Behandlungseffekt der betrachteten Gruppe dar; dieser ist relativ für alle Gruppen und kann daher als durchschnittlicher Behandlungseffekt gelten

Multivariate, nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten; $p < 0.386$ für den Vergleich zwischen mild + moderat und schwerem ARDS; $p < 0.001$ für den Vergleich zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten

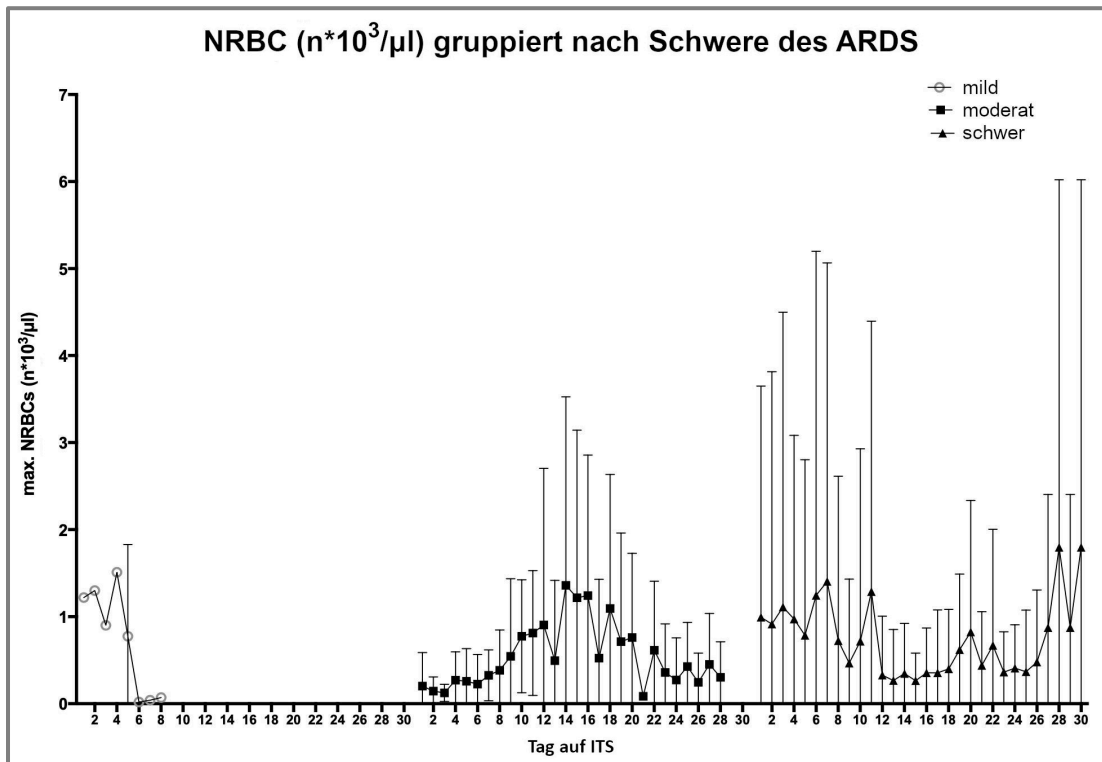
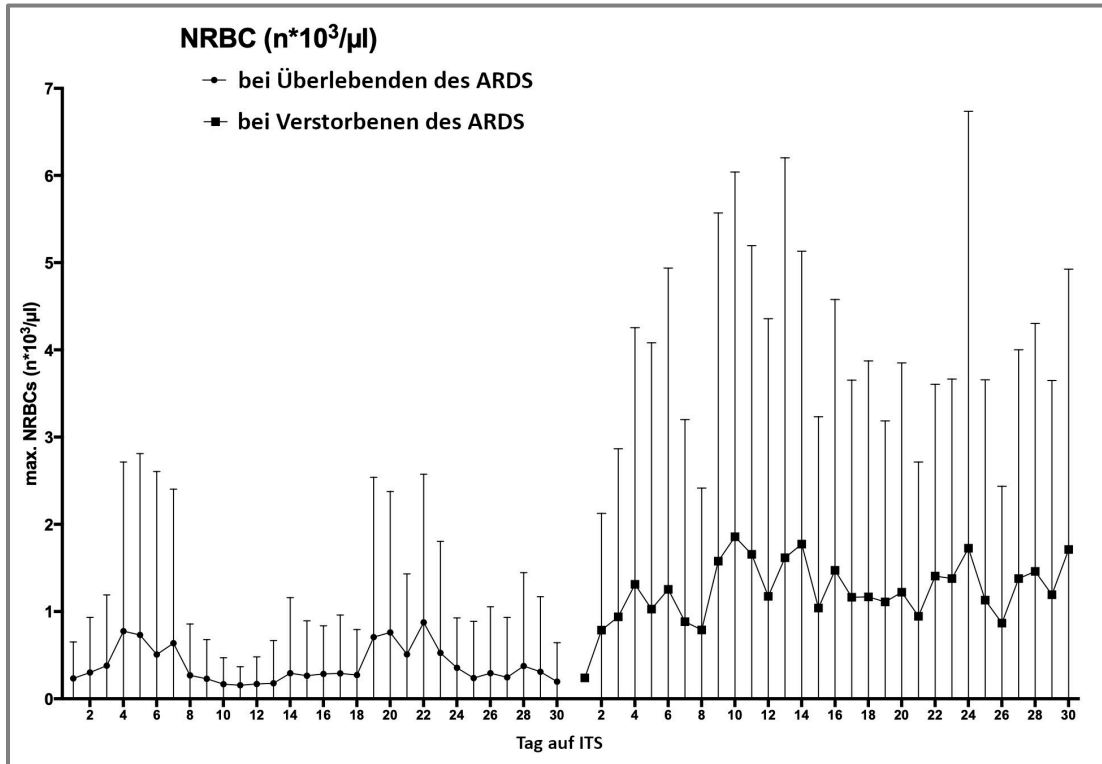


Abbildung 6 (oben) + 7 (unten)

Konzentration der Erythroblasten bei ARDS Patienten über die ersten aufeinanderfolgenden 30 Behandlungstagen auf ITS.

- Abbildung 6: in Abhängigkeit des Überlebens bzw Versterbens
- Abbildung 7: in Abhängigkeit des ARDS Schweregrades (mild, moderat, schwer)

Die Daten sind dargestellt als Median \pm Standardabweichung.
n=404

4.3 Erythroblasten und Mortalität

Bei Betrachtung der Korrelation von Erythroblasten und Mortalität fällt zunächst auf, dass NRBC positive Patienten eine erhöhte Gesamtmortalität aufweisen (vgl. Abbildung 9). Während die Mortalität insgesamt bei 28% lag, erhöhte sie sich auf nahezu 99%, wenn die Konzentration der Erythroblasten im peripheren Blut auf mehr als 10 000 Zellen je Mikroliter anstieg. Unsere multivariaten longitudinalen Analysen bezogen auf die zwei Gruppen der

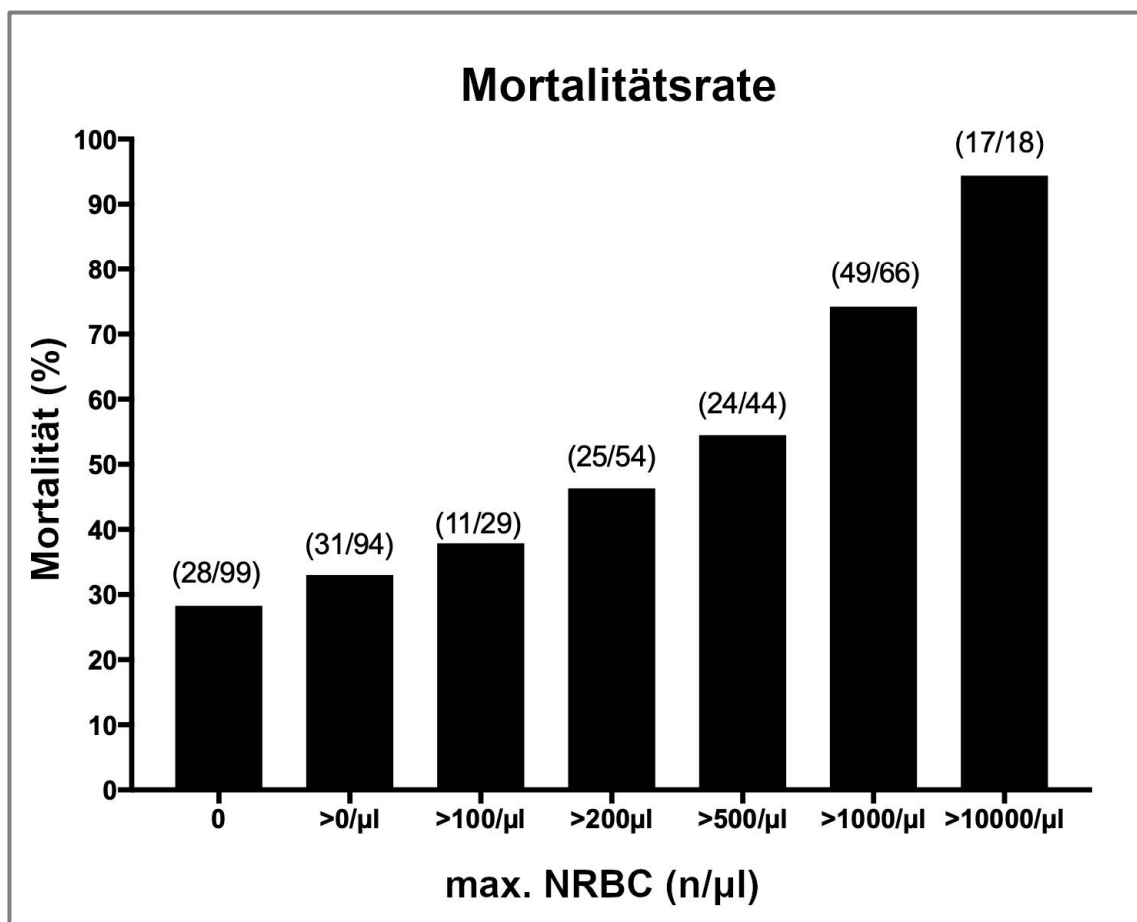


Abbildung 8

ITS-Mortalitätsrate bei ARDS Patienten in Abhängigkeit der individuellen NRBC Konzentrationsmaxima im peripheren Blut. Die Zahlen in Klammern kennzeichnen das Verhältnis von verstorbenen zu allen Patienten in dem jeweiligen Konzentrationsspektrum.

überlebenden und verstorbenen Patienten zeigen demnach statistisch signifikant erhöhte NRBC Werte bei den Verstorbenen ($p < 0.001$). Bei Patienten, die im Verlauf verstarben, trat der Tod im Mittel 3 Tage nach der höchsten NRBC Konzentration ein (0; 12).

Die Mehrzahl verstarb jedoch innerhalb von 24 Stunden nach Erreichen der individuellen Spitzenkonzentration (vgl. Abbildung 8). Statistisch signifikant zeigte sich hier der Zusammenhang zwischen Höhe der Konzentration und der Überlebenszeit nach Erreichen dieser. Je höher die maximale NRBC Konzentration war, desto schneller verstarben die Patienten im Anschluss (Spearman's Rangkorrelationskoeffizient $Rho = -0.31$; $p < 0.001$). Weitere multiple logistische Regressionsanalysen, die wir mit diversen Störfaktoren durchführten (beispielsweise Alter, Geschlecht, ARDS Schweregrad, Implementation

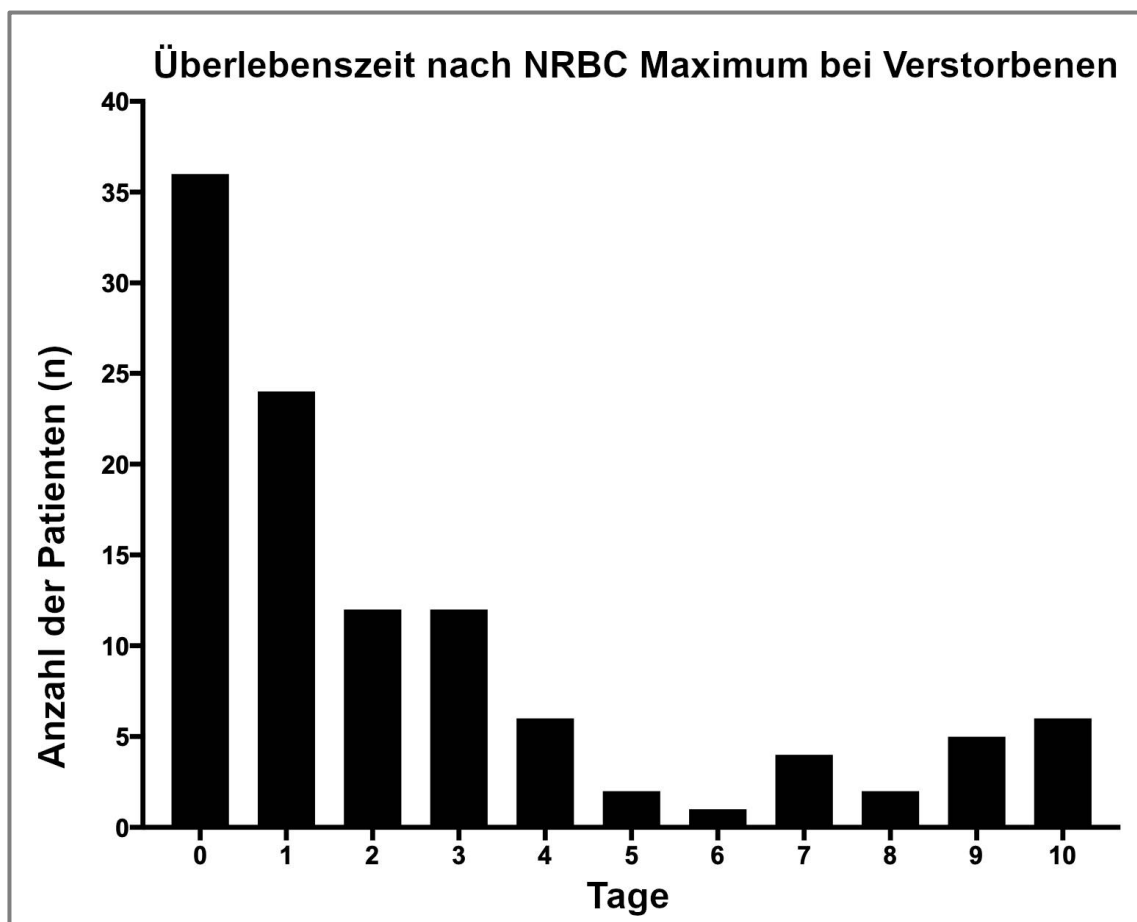


Abbildung 9

Häufigkeitsverteilung der überlebten Tage nach dem Auftreten des individuellen NRBC Konzentrationsmaximums bei verstorbenen Patienten.

Die Daten werden als Histogramm dargestellt, mit der Anzahl der Patienten im Verhältnis zu den überlebten Tagen.

extrakorporaler Membranoxygenierung, APACHE, SOFA, P_{peak} , pulmonale Compliance) zeigten, dass die NRBC Positivität einen unabhängigen Risikofaktor für Mortalität darstellte. Dabei zeigte sich das Risiko für ein Ableben auf der Intensivstation mit einem mehr als

Ergebnisse

verdoppeltem Wert (OR 2.03; 95% CI 1.16 – 3.53; $p < 0.05$). Ein Anstieg der Erythroblasten im peripheren Blut von 1000 Zellen je Mikroliter erhöht die Sterblichkeit aus stochastischer Sicht um 19%. Zum Zeitpunkt der Aufnahme auf die Intensivstation konnten außerdem der APACHE II Score und die pulmonale Compliance als unabhängige Risikofaktoren für die Mortalität identifiziert werden (vgl. Tabelle 2). Im Gegensatz dazu stellen Schweregrad des ARDS nach Berlin Definition, Notwendigkeit einer ECMO Therapie, Geschlecht und Alter keine unabhängigen Risikofaktoren für die prädiktive Sterblichkeit dar.

4.4 Prognostische Validität

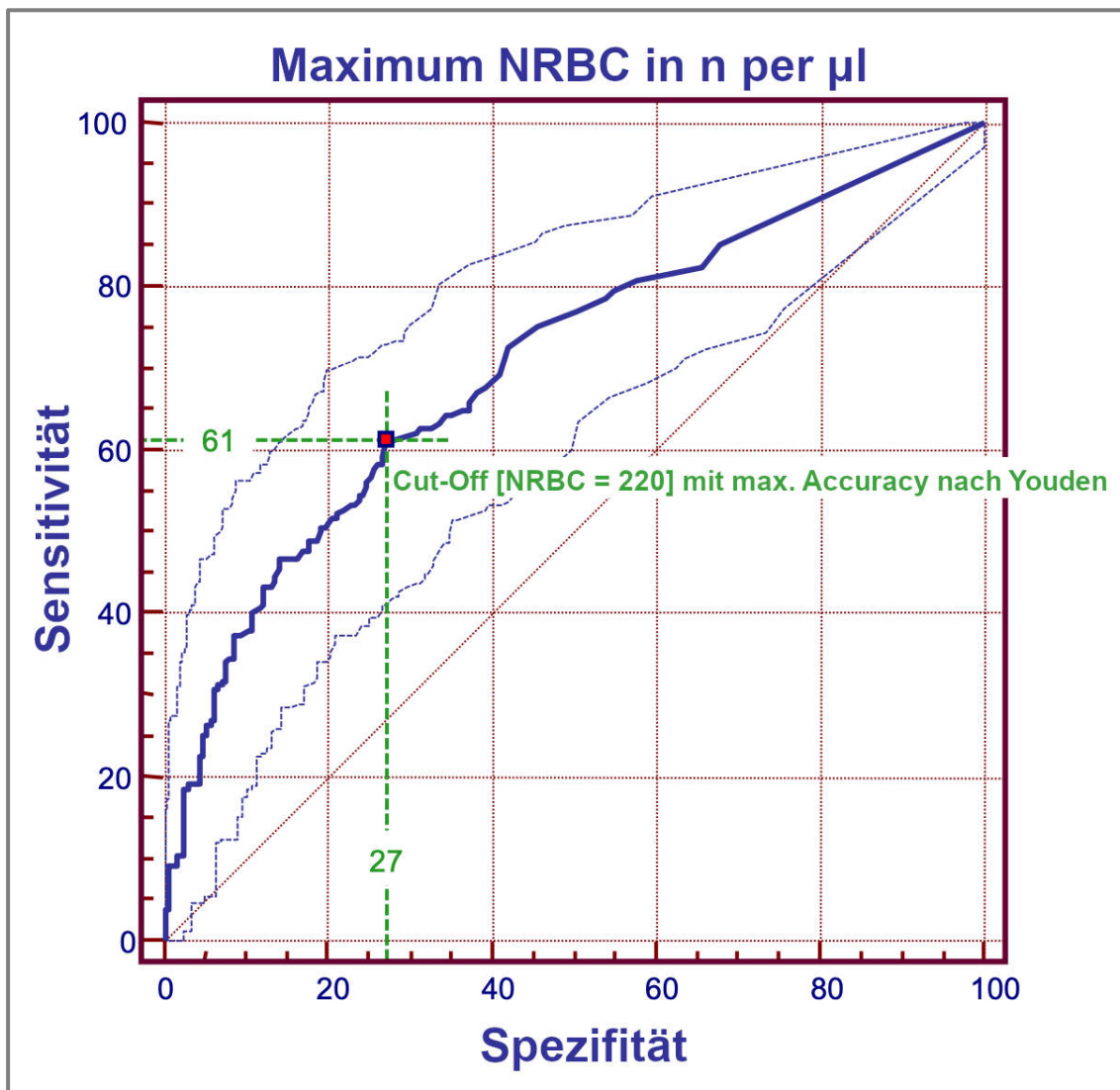


Abbildung 10

ROC (receiver operator curve) zur Errechnung der prädiktiven Validität der NRBC Konzentration im peripheren Blut. Der Wert bei dem der vertikale Abstand zwischen ROC und diagonaler Linie (diese stellt die höchste Summe von Sensitivität und Spezifität dar) am größten ist, wurde genutzt, um einen Cut-Off-Wert zu berechnen.

ROC AUC: 0,71; 95% CI 0,66-0,75; $p < 0.0001$

Um die prädiktive Wertigkeit von Erythroblasten im peripheren Blut bei ARDS weiter zu spezifizieren, wurde mittels Youden-Index ein Cut-off Wert bestimmt. Dieser lag bei 220 Erythroblasten im peripheren Blut je Mikroliter. Bei dieser Konzentration wurden Spezifität

und Sensitivität der prognostischen Qualität am besten gekennzeichnet (ROC AUC 0.71; 95% CI 0.66 – 0.75; $p < 0.0001$).

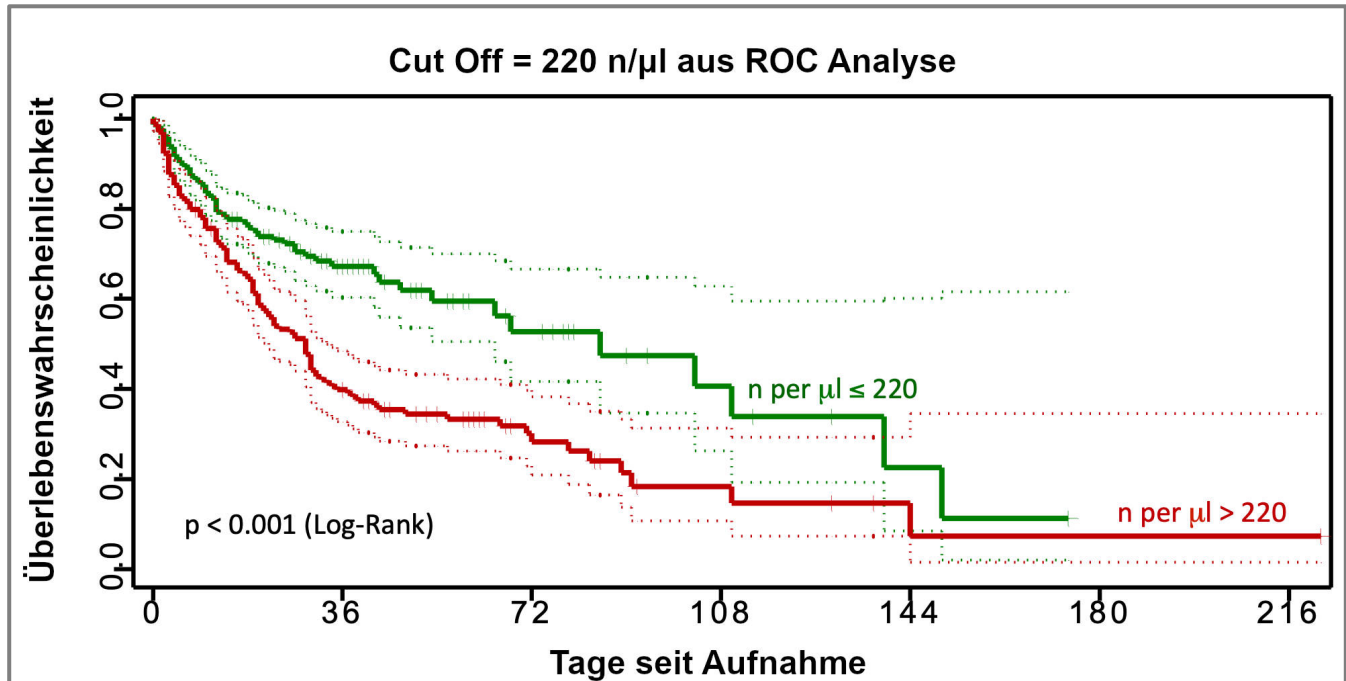


Abbildung 11

Überlebenswahrscheinlichkeit von ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen über dem Cut-Off Wert von 220µl/l bzw. darunter, dargestellt als Kaplan-Meier Kurve

Log-Rank Test: $p < 0.001$

Die anschließende logistische Regressionsanalyse mit der Mortalität als Wahrscheinlichkeit gesetzt, identifizierte diesen Cut-off Wert von 220/µl als unabhängigen Risikofaktor fürs Versterben, mit einem mehr als verdreifachten Risiko für einen intensivstationären Tod bei Überschreitung dieser Konzentrationsschwelle (OR 3.2; 95% CI 1.93 – 5.35; $p < 0.0001$). Mit einem weiteren Anstieg der Konzentration von 1000/µl erhöht sich die Odds Ratio sogar auf 5.8 und ergab damit ein 5.8-fach erhöhtes Risiko für die Patienten zu versterben. Mittels Kaplan-Meier Kurve stellen wir außerdem ein medianes Überleben von 85 Tagen dar, bei Patienten mit NRBC Konzentrationen unter 220/µl. Patienten, die in der Konzentration mindestens einmalig über dem Cut-off Wert lagen, konnte eine mittlere Überlebenszeit von 29 Tagen zugeordnet werden (log rank $p < 0.001$) (vgl. Abbildung 11). Das dazugehörige Cox-Modell mit proportionalem Ausfallsrisiko konnte diesen Zusammenhang

bestätigen. Nach anschließender Rückwärtsselektion ließ sich die NRBC Konzentration über 220/ μ l als unabhängiger Risikofaktor für Mortalität darstellen und ergab außerdem ein 1,5-fach erhöhtes Risiko für das Versterben auf der Intensivstation während des Beobachtungszeitraumes (HR 1.41; 95% CI 1.007 – 1.99; $p < 0.05$). Auch der APACHE II Score und die pulmonale Compliance wurden als statistisch unabhängige Mortalitätsfaktoren errechnet (vgl. Tabelle 2).

Der mediane Follow-Up Zeitraum für alle Patienten lag bei 35 Tagen und umfasste in der Regel die Gesamtdauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation 8i.

multivariate logistische Regressionsanalyse und Cox-Regressionsanalyse von ITS-Mortalität beeinflussenden Risikofaktoren			
multivariate logistische Regressionsanalyse	p-Wert	OR	95% CI
APACHE II (Aufnahme)	<0.001	1.04	1.02 - 1.07
pulmonale Compliance (Aufnahme)	<0.001	0.96	0.94 - 0.97
NRBC >220/ μ l	<0.001	3.21	1.93 - 5.35
Cox-Regressionsanalyse	p-Wert	HR	95% CI
APACHE II (Aufnahme)	<0.05	1.02	1.00 - 1.04
pulmonale Compliance (Aufnahme)	<0.001	0.97	0.96 - 0.99
NRBC >220/ μ l	<0.05	1.41	1.00 - 1.99

OR = Odds-Ratio; CI = Konfidenzintervall; HR = Hazard Ratio; APACHE II = Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II; NRBC = Erythroblasten

Tabelle 2

Unabhängige Risikofaktoren für eine erhöhte ITS-assoziierte Mortalität bei Patienten mit ARDS. Diese in der multivariaten Regression (unter Nutzung einer Rückwärts-Selektionsanalyse) betrachteten Parameter, wiesen einen signifikanten Einfluss in der univariaten Analyse auf. Alle Parameter: Alter, Geschlecht, ITS Aufnahmescores (APACHE, SOFA), schweres ARDS (ja/nein), Ppeak, pulmonale Compliance, NRBC >220/ μ l (ja/nein); ECMO (ja/nein).

n=404

4.5 Pulmonaler Gasaustausch und Ausprägung der Organdysfunktion

Um die Trennschärfe des wie oben angegeben ermittelten Cut-off Wertes zu validieren, stellten wir typische Parameter des pulmonalen Gasaustausches (Horovitz-Index und Oxygenierungsindex), sowie den SOFA Score als Maßstab für ein Organversagen mit NRBC Konzentrationen über 220/ μl gegenüber. Für die ersten 7 Tage nach Aufnahme auf Station, ermittelten wir also Horovitz-Index, Oxygenierungsindex und SOFA Score der Patienten und

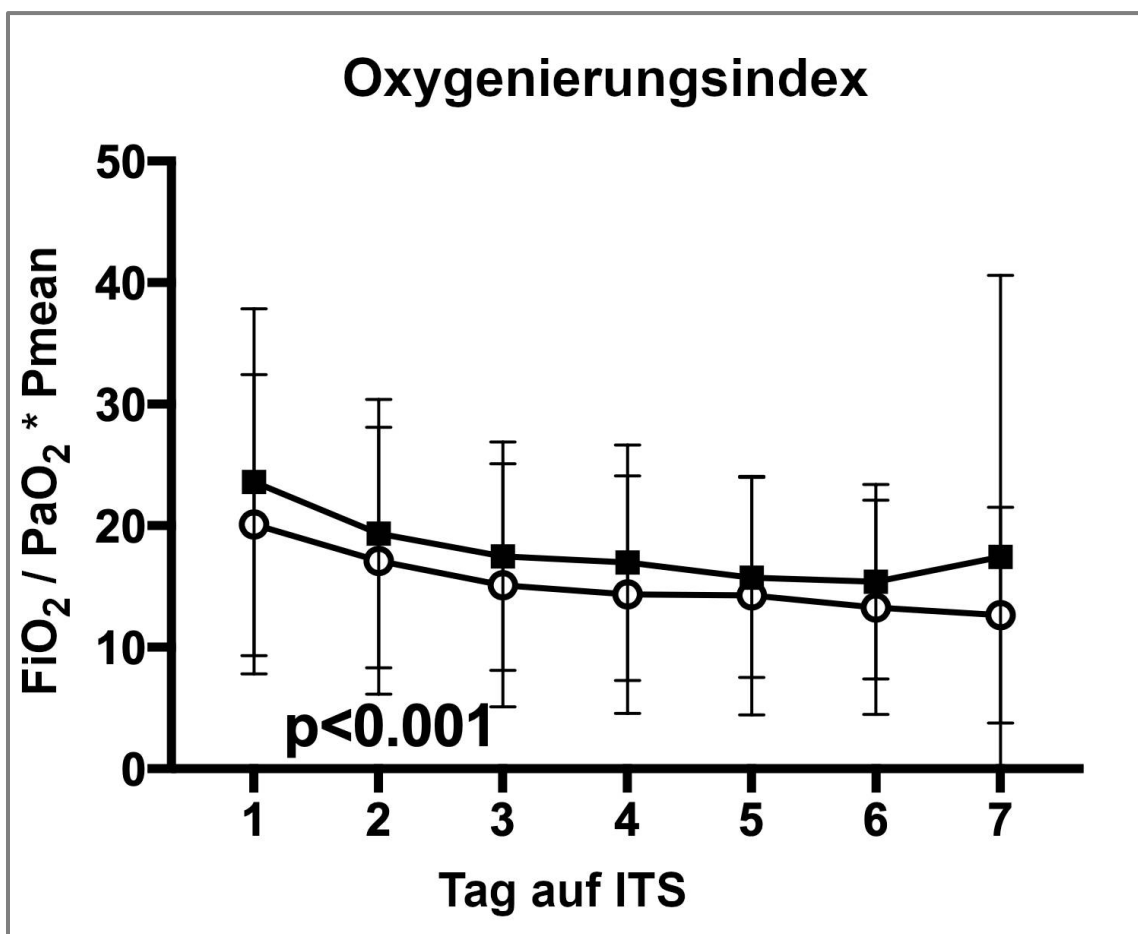


Abbildung 12

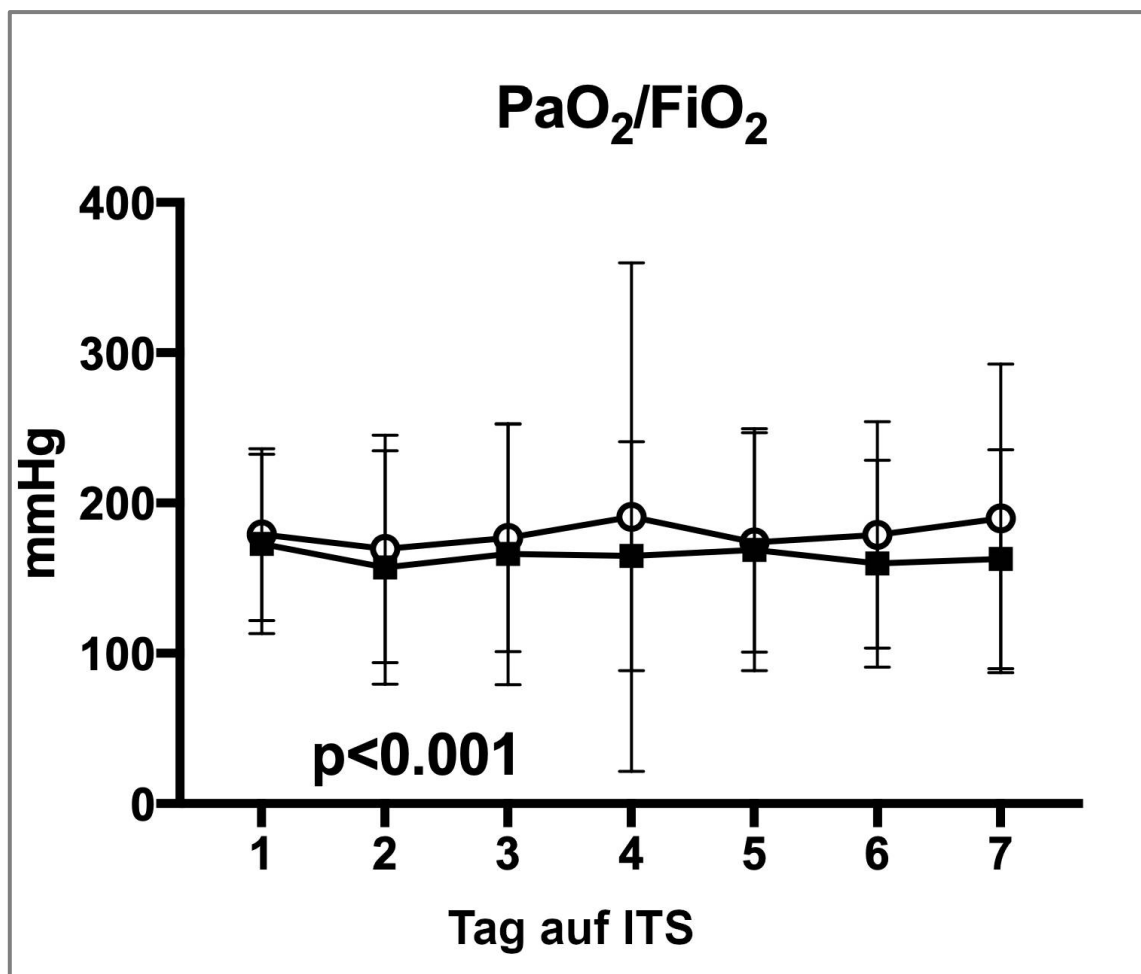
Oxygenierungsindex bei ARDS Patienten, unterteilt in Patienten unter dem errechneten (s.o.) Cut-Off Level von 220/ μl bzw. darüber. Dargestellt werden die ersten 7 Tage des ITS-Aufenthaltes. Die angezeigten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich zwischen beiden Gruppen über das Zeitintervall hinweg.

- = ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen $\geq 220/\mu\text{l}$
- = ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen $< 220/\mu\text{l}$

*Die Daten sind dargestellt als Median \pm Standardabweichung.
Multivariate nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten.
n=404*

stellten die hier erhobenen Parameter den Erythroblasten gegenüber, sofern die Patienten über den errechneten Cut-off Werten lagen. Im Laufe der Zeit verschlechterten sich die Parameter für pulmonalen Gasaustausch und Organversagen drastischer bei Patienten mit NRBC Konzentrationen über 220/ μ l, verglichen mit den ARDS Patienten, die unter dieser Schwelle lagen.

In den durchgeführten multivariaten nicht parametrischen Longitudinalanalysen waren alle



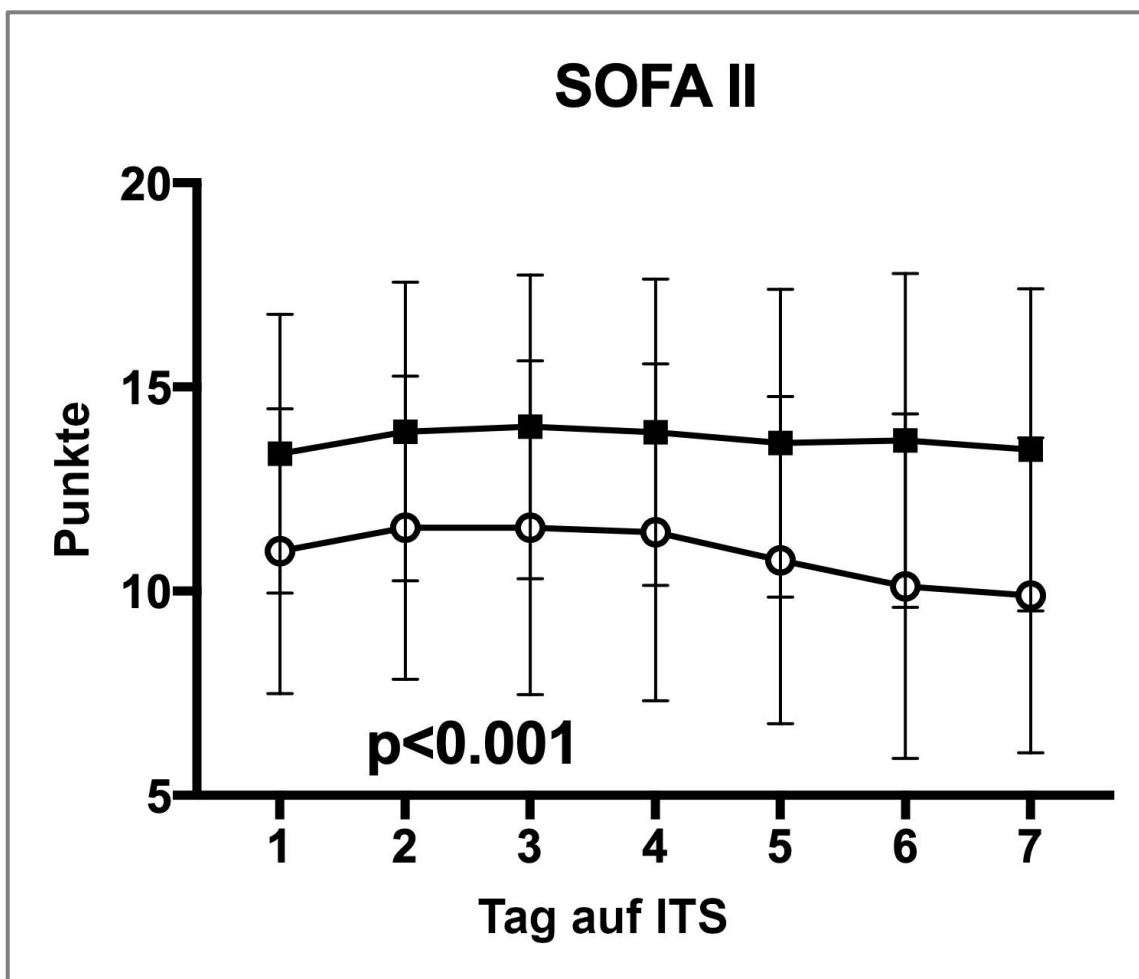
Abbildungen 13

Horovitz-Index (PaO₂/FiO₂-Quotient) bei ARDS Patienten, unterteilt in Patienten unter dem errechneten (s.o.) Cut-Off Level von 220/ μ l bzw. darüber. Dargestellt werden die ersten 7 Tage des ITS-Aufenthaltes. Die angezeigten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich zwischen beiden Gruppen über das Zeitintervall hinweg.

- = ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen \geq 220/ μ l
- = ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen < 220/ μ l

*Die Daten sind dargestellt als Median \pm Standardabweichung.
Multivariate nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten.
n=404*

wie oben beschrieben betrachteten Parameter statistisch signifikant bei Patienten über oder unter dem Cut-off Wert von 220 Erythroblasten je Mikroliter ($p < 0.001$). Diese Ergebnisse sind hinweisend für eine schwerwiegendere klinische Verfassung auf Seite der NRBC positiven Patienten mit mehr als 220 Zellen je Mikroliter im Blut, verglichen mit Patienten, bei denen weniger Zellen im Blut nachweisbar waren. In Zusammenschau bestärken diese Daten, dass die Anwesenheit von Erythroblasten im peripheren Blut ein valider Marker sein könnte, um Rückschlüsse auf den Schweregrad der Erkrankung bei Patienten mit ARDS zuzulassen.



Abbildungen 14

SOFA II Score bei ARDS Patienten, unterteilt in Patienten unter dem errechneten (s.o.) Cut-Off Level von 220/ μl bzw. darüber. Dargestellt werden die ersten 7 Tage des ITS-Aufenthaltes. Die angezeigten p-Werte beziehen sich auf den Vergleich zwischen beiden Gruppen über das Zeitintervall hinweg.

- = ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen $\geq 220/\mu\text{l}$
- = ARDS Patienten mit NRBC Konzentrationen $< 220/\mu\text{l}$

*Die Daten sind dargestellt als Median \pm Standardabweichung.
Multivariate nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten.
n=404*

4.6 Risikofaktoren für das Auftreten von Erythroblasten-Konzentrationen > 220/ μ l

Abschließend untersuchten wir Risikofaktoren für das Auftreten von NRBC im peripheren Blut oberhalb der Grenze des berechneten Cut-off Wertes bei den eingeschlossenen ARDS Patienten. Multiple logistische Regressionsanalysen zeigten, dass Patienten mit schwerem ARDS ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut über 220/ μ l hatten.

Damit ist das Vorhandensein eines schweren ARDS ein unabhängiger Risikofaktor für Konzentrationen über dem Cut-off Wert. Bei Patienten mit schwerem ARDS ist das Risiko für NRBC Konzentrationen über 220/ μ l sogar um 60% höher, als bei Patienten mit milden oder moderaten Schweregraden.

Des Weiteren konnten die pulmonale Compliance und Schwere des Organversagens anhand SOFA II Score als unabhängige Risikofaktoren errechnet werden. Alter, Geschlecht, die Notwendigkeit einer extrakorporalen Lungenunterstützung, inspiratorische Beatmungsdrücke und Horovitz-Index konnten nicht als unabhängige Risikofaktoren für NRBC Konzentrationen > 220/ μ l bestätigt werden.

multivariate logistische Regressionsanalyse zur Identifizierung von Risikofaktoren für NRBC-Positivität > 220/ μ l			
multivariate logistische Regression	p-Wert	OR	95% CI
SOFA II (Aufnahme)	<0.0001	1.17	1.10 - 1.25
pulmonale Compliance (Aufnahme)	<0.01	0.98	0.97 - 0.99
schweres ARDS	<0.05	1.81	1.1 - 2.97

OR = Odds-Ratio; CI = Konfidenzintervall; NRBC = Erythroblasten

Tabelle 3

Unabhängige Risikofaktoren für NRBC Konzentrationen \geq 220/ μ l bei Patienten mit ARDS.

Diese in der multivariaten Regression (unter Nutzung einer Rückwärts-Selektionsanalyse) betrachteten Parameter, wiesen einen signifikanten Einfluss in der univariaten Analyse auf. Alle Parameter: Alter, Geschlecht, ITS Aufnahmescores (APACHE, SOFA), schweres ARDS (ja/nein), Ppeak, pulmonale Compliance, NRBC >220/ μ l (ja/nein), ECMO (ja/nein).

n=404

5 Diskussion

5.1 Erythroblasten im peripheren Blut als prädiktiver Faktor der erhöhten Mortalität

Diese retrospektive Kohortenstudie am Campus Virchow Klinikum der Charité wurde mit dem Ziel durchgeführt, die prognostische Wertigkeit von Erythroblasten im peripheren Blut bei Patienten mit ARDS zu evaluieren. Aus den gewonnenen Daten der in die Studie eingeschlossenen Intensivpatienten konnten wir ermitteln, dass die Anwesenheit von Erythroblasten im peripheren Blut einen unabhängigen Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität darstellt. Die Patienten, bei denen sich mindestens einmal NRBC nachweisen ließen, hatten unabhängig von jedweder Konzentration ein mehr als verdoppeltes Risiko auf der Intensivstation zu versterben. Anhand unserer weiteren Berechnungen konnten wir einen Cut-off Wert von 220 Zellen je Mikroliter identifizieren, der am suffizientesten zwischen Spezifität und Sensitivität diskriminierte. Für Patienten die über diesem Cut-off Wert lagen, erwies sich die Prädiktivität des Vorhandenseins der Erythroblasten am validesten. Bei diesen ARDS Patienten konnten wir statistisch ein mehr als verdreifachtes Risiko für ein Versterben auf der Intensivstation berechnen. Als unabhängigen Risikofaktor für eine NRBC Konzentration über 220 Zellen je Mikroliter konnten wir das Vorhandensein eines schweren ARDS laut Berlin Definition, eine reduzierte pulmonale Compliance, sowie einen erhöhten SOFA Score identifizieren. Eine schwer geschädigte Lunge mit einem kompromittierten Gasaustausch erhöht also das Risiko für das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut und gleichbedeutend auch die Mortalität.

Hinsichtlich des prädiktiven Wertes die Mortalität betreffend, konnten wir mit unseren Untersuchungen zu Erythroblasten im peripheren Blut die Ergebnisse reproduzieren, die bereits diverse Wissenschaftler zuvor veröffentlichten: Die Anwesenheit von Erythroblasten im peripheren Blut korreliert mit einer erhöhten Sterblichkeit [16, 18, 33, 40, 50, 52–54]. Verglichen mit diesen Studien, wiesen die von uns eingeschlossenen Patienten teilweise weitaus höhere Konzentrationsmaxima von NRBC auf.

Desai et al., die in ihrer Arbeit auch auf den Zusammenhang der Mortalität und Erythroblasten Konzentrationen von über 2000 Zellen je Mikroliter eingehen, nähern sich mit ihren Daten am ehesten unseren Ergebnissen. Von 9 Patienten mit Konzentrationen über 2000/ μ l überlebte in dieser Studie nur ein Patient den Krankenhausaufenthalt [18]. In unserer durchgeführten Studie bei Patienten mit ARDS wird numerisch sogar noch deutlicher

welchen engen Zusammenhang die quantitative Konzentration der Erythroblasten mit der Mortalität haben: Von 18 Patienten mit NRBC Konzentration über 10 000/ μ l überlebte nur ein Patient den intensivstationären Aufenthalt.

Die hier durchgeführte Studie zeigt zusammenfassend, dass jede nachweisbare Erythroblasten Konzentration im peripheren Blut ein unabhängiger Faktor für eine erhöhte Mortalität ist. Diese Patienten sterben nicht nur mit einer höheren Wahrscheinlichkeit auf der Intensivstation als Patienten ohne Erythroblasten im peripheren Blut, sondern ein Anstieg der Konzentration dieser Zellen geht mit statistischer Signifikanz auch mit einem Anstieg der Sterblichkeit einher. Mit dieser Erkenntnis bestätigen wir die Untersuchungsergebnisse zahlreicher Studien der letzten Jahre, in denen die Nachweisbarkeit von NRBC mit einer schlechten Prognose assoziiert war [16, 18, 33, 34, 40, 50–52, 52–55]. Trotz des statistisch signifikanten prädiktiven Wertes der Erythroblasten, gab es in unserer Kohorte NRBC negative Patienten, die verstarben und analog NRBC positive Patienten, die überlebten. Nichtsdestotrotz konnten wir mit unseren Analysen aufzeigen, dass Erythroblasten im peripheren Blut bei Patienten mit ARDS ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität sind und eine hohe prognostische Aussagekraft besitzen. So konnten wir für Patienten mit Erythroblasten-Konzentrationen über 10 000 Zellen je Mikroliter eine Mortalität von nahezu 100% berechnen, wohingegen eine vergleichbare Studie von Stachon et al. bei dem Teil der Intensivpatienten mit den höchsten NRBC Konzentrationen eine Mortalität von 78,6% aufzeigte [54].

Der anhand unserer Datensätze berechnete Cut-Off Wert von 220 Erythroblasten/ μ l konnte als geeignetster Wert für die Diskriminierung zwischen Überleben und Versterben bestimmt werden. Für Patienten über diesem Cut-Off Wert sind die Konzentrationen der Erythroblasten sowohl hoch spezifisch als auch hoch sensitiv anzusehen, wenn man die Wahrscheinlichkeit des Todes während des Aufenthaltes auf der Intensivstation betrachtet. Erhöhte sich nämlich die Konzentration auf über 220 Zellen/ μ l, führte dies zu einem mehr als verdreifachten Mortalitätsrisiko gegenüber der Gesamtpopulation der ARDS Patienten. Wenn man das inhärente Mortalitätsrisiko von ARDS Patienten in Betracht zieht, kann ein mehr als verdreifachtes Risiko für das Ableben des Patienten von erheblicher Auswirkung auf das Therapiekonzept sein, vor allem bei einem Krankheitsbild wie dem Acute Respiratory Distress Syndrom, dessen Verlauf und Outcome weiterhin einer schlecht einschätzbaren Dynamik unterliegt [5, 6, 11, 46]. Zudem konnten in unserer Studie die Erythroblasten bei Patienten mit ARDS nicht nur eine prädiktive Aussage über Leben oder Tod generieren, sondern konnten auch mit hohem diskriminatorischem Wert ein Organversagen und Funktionseinschränkung des pulmonalen Gasaustausches anzeigen. Diese Gegebenheit kann

am ehesten als ein Hinweis auf das Ausmaß der akuten Lungenschädigung gewertet werden. Diese Theorie wurde schon zuvor von mehreren Autoren postuliert, die ebenfalls annahmen, dass das Auftreten von NRBC eine Reaktion auf hypoxischen Stress sei [16, 18, 33, 49, 51, 54]. Die Daten untermauern damit die naheliegende These, dass das Vorhandensein von Erythroblasten im peripheren Blut ein präziser Marker für den Schweregrad des ARDS sein könnte. Dies ist ein weiterer Gesichtspunkt, unter dem der Nachweis von Erythroblasten im peripheren Blut einen Mortalitätsprädiktor darstellen kann. In der LUNG-SAFE Studie beispielweise wurde das milde ARDS retrospektiv mit einer Mortalitätsrate von 34,9%, das schwere ARDS hingegen mit einer Mortalitätsrate von 46,1% in Verbindung gebracht [36]. Womöglich werden weitere Studien und Untersuchungen in Zukunft dazu führen, dass wir mithilfe der Erythroblastenkonzentration im peripheren Blut verbesserte Vorhersagemodelle für die Sterblichkeit bei Krankheitsbildern mit respiratorischem Versagen etablieren können.

5.2 Erythroblasten im peripheren Blut als Parameter bei ARDS

Der pathophysiologische Mechanismus des Auftretens von Erythroblasten im peripheren Blut ist weiterhin nicht vollständig aufgeklärt. Insofern ist es aus wissenschaftlicher Sicht zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich zu erklären, welche Vorgänge dazu führen, dass schwer kranke Patienten mit ARDS deutlich höhere Konzentrationen dieser Zellen aufweisen. Nichtsdestotrotz lassen sich anhand unserer Ergebnisse bereits bestehende Theorien zum zugrundeliegenden Mechanismus erhärten. Alle Patienten mit ARDS haben gemein, dass ihr Krankheitsbild durch eine respiratorische Insuffizienz unterschiedlichen Grades geprägt ist, welche nach der Berlin Definition mittels Horowitz-Index klassifiziert wird [3]. Dass das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut einer arteriellen Hypoxie zugrunde liegen könnte, schlussfolgerten Groen und Godfried erstmals vor 70 Jahren, nachdem sie neben neun Patienten mit Erythroblastämie in ihrer eigenen Klinik auch die damalige Literatur studierten und als gemeinsamen Nenner aller Fälle entweder eine Zyanose oder Anämie ausmachten, welche, so die Annahme, in einer Hypoxie resultierten [25]. Auch Forschungsergebnisse des 21. Jahrhunderts konnten diese Vermutung erhärten. Kuert et al. konnten einen statistischen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut und dem Sauerstoffpartialdruck der Patienten vom ersten Nachweis dieser herstellen [33]. Stachon et al. erwiesen in einer Studie eine Assoziation zwischen erhöhten Konzentrationen von Erythropoetin, dessen Ausschüttung hauptsächlich durch niedrige Sauerstoffpartialdrücke in den Nierenarterien erfolgt und dem Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut [51].

Einen ähnlichen Zusammenhang konnten Minior et al. im Tiermodell bei Ratten herstellen, wenn auch in dieser Versuchsreihe das Muttertier der Hypoxie ausgesetzt war und die Erythroblastenkonzentration anschließend bei den neugeborenen Nagetieren bestimmt wurde [38]. Dass Erythroblasten als sehr seltene Zellen auch im physiologischen Blutbild existent sind, erhärtet laut Schreier et al. die These, dass Erythroblasten das Knochenmark aktiv verlassen können [47]. Unter diesem Gesichtspunkt ließe sich die Theorie aufstellen, dass bei Critical Illness nicht eine abnormal erhöhte Migration der Erythroblasten ins periphere Blut zu erhöhten Konzentrationen führt, sondern Störungen auf zellulärer Ebene, wie zum Beispiel eine gestörte E nukleation. Zhao et al. zeigten 2016, dass erhöhte Konzentrationen von EPO die Effektivität der E nukleation reduziert, indem ROS in den Zellen gebildet werden [62]. Ob eine vermehrte Migration der Blasten ins Blut, oder eine gestörte E nukleation der Blasten mit einer Verzögerung der Zellreifung zu erhöhten NRBC Konzentrationen führt, ist aktuell nicht klar. Um diese Thesen zu widerlegen oder zu beweisen, werden weitere Studien und Untersuchungen benötigt.

Eine weitere Theorie zur Genese der Erythroblastämie ist die systemische Inflammation. Mit dieser assoziiert sind hohe Konzentrationen proinflammatorischer Zytokine im Blut. Einige von diesen, nämlich Interleukin-3, Interleukin-6 und Interleukin-12p70 konnten Stachon et al. im Jahr 2005 mit dem Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut in Zusammenhang bringen [51]. Auch andere Studien legen eine Assoziation zwischen NRBC Konzentration im peripheren Blut und systemischer Inflammation, sowohl bei Erwachsenen als auch bei Neugeborenen nahe [8, 18, 19]. Sowohl Hypoxie als auch Inflammation sind bei Patienten mit ARDS in der Regel Spektrum des Symptomkomplexes [3]. Unsere Schlussfolgerung aus unseren Untersuchungsergebnissen und den evidenzbasierten Kenntnissen zum Acute Respiratory Distress Syndrome und Erythroblasten ist, dass sowohl Hypoxie als auch Inflammation die Spiegel von Erythroblasten im peripheren Blut kombinatorisch und additiv beeinflussen. Diese These erklärt sowohl die hohe Prävalenz der Erythroblastämie bei Patienten mit ARDS, also auch die von uns gemessenen hohen Konzentrationen bei Patienten mit schweren Verläufen. Ebenso gestützt wird diese Vermutung durch unsere statistische Berechnung, welche den Schweregrade „schweres“ ARDS als unabhängigen Risikofaktor für NRBC im peripheren Blut darstellen konnte. Das „schwere“ ARDS ist laut Berlin Definition mit einem enorm kompromittierten Gasaustausch vergesellschaftet, mit einer verbleibenden $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Ratio von unter 100mmHg bei einem PEEP über 5 cmH₂O [3]. Des Weiteren konnten wir in unseren Berechnungen feststellen, dass Parameter, die mit einer Hypoxie vergesellschaftet sind (Oxygenierungsindex, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Index) bei Patienten mit hohen

NRBC Konzentrationen statistisch signifikant verschlechtert waren. In unserer Analyse konnten wir auch weitere Parameter in einen Zusammenhang mit NRBC bringen. Trotz statistischer Signifikanz, muss hier aufgrund einer großen Streuung die klinische Relevanz dieser Parameter für den pulmonalen Gasaustausch jedoch sicherlich in Frage gestellt werden. Ob die Patienten mit NRBC Konzentrationen über dem errechneten Cut-off Wert tatsächlich auch einen klinisch eindrücklich schlechteren Gasaustausch zeigten als Patienten unterhalb des Cut-off Wertes, ist ungewiss und lässt sich aufgrund des Designs einer retrospektiven Analyse nicht aussagen. Als unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten von NRBC Konzentrationen > 220 Zellen/ μl konnte der Horowitzindex rechnerisch nicht identifiziert werden.

Sowohl SOFA II Score, die pulmonale Compliance und ein schweres ARDS laut Berlin Definition sind unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut. Diese Assoziation unterstreicht sowohl erneut den prädiktiven Wert der Erythroblasten hinsichtlich der Mortalität, als auch die Konzentration der Zellen im peripheren Blut bei arterieller Hypoxämie: ein erhöhter SOFA Score wurde bereits in diversen Studien mit einer erhöhten Mortalität in Verbindung gebracht [21, 39, 41]. Ein erhöhter SOFA Score wurde von uns als stochastisch unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten von Erythroblasten im peripheren Blut im untersuchten Datenkollektiv identifiziert. Auch eine erniedrigte pulmonale Compliance und der Schweregrad „schweres ARDS“ zählen zu diesen Risikofaktoren. Beide Parameter stellen mit hoher Verlässlichkeit eine schwere Organdysfunktion dar.

Die Intensivstation 8i im Virchow-Klinikum der Charité ist ein spezialisiertes überregionales ARDS Zentrum. Dieser Umstand erklärt, weshalb die für diese Studie selektierte Patientenkohorte charakterisiert wurde durch einen stark beeinträchtigten Gesundheitszustand bei schwerer Krankheit. Wie bereits oben beschrieben unterscheidet sich die Kohorte damit von vergleichbaren zuvor publizierten Studien, da die Dichte von schwerst kranken Patienten erwartungsgemäß überdurchschnittlich hoch ist. Diese Konditionen spiegelten sich wider in hohen Scores für APACHE II und SOFA II bei Aufnahme auf die Station. Im Durchschnitt waren diese intensivmedizinischen Schweregrad-Scores bei unserer Patientenkohorte höher als in vergleichbaren Studien [40, 54]. In Hinblick auf die erfassten intensivmedizinischen Scores lag unsere Patientenkohorte bei den erreichten medianen Werten, über dem Durchschnitt der ALIVE Studie, welche Epidemiologie und Outcome von ARDS Patienten auf Intensivstationen in ganz Europa verglich [6]. Gleichzeitig deuteten die Parameter für pulmonalen Gasaustausch und invasive mechanische Ventilation bei unserer Patientenkohorte

in den meisten Fällen auf ein schwerstes Lungenversagen hin. Unter diesen Fällen, nämlich Patienten mit moderatem oder schwerem ARDS laut Berlin Definition, gab es mehr NRBC positive Patienten mit statistisch signifikant höheren Konzentrationen verglichen mit den Fällen eines milden ARDS unserer Patientenkohorte. Darüber hinaus brauchten die NRBC positiven Patienten statistisch signifikant eine längere Behandlung mittels invasiver Beatmung, häufiger eine extrakorporale Lungenersatztherapie und wiesen ebenfalls mit statistischer Signifikanz einen verlängerten intensivstationären Aufenthalt auf, verglichen mit der Gruppe der NRBC negativen Patienten unserer Kohorte. Auch der pulmonalen Compliance konnte von uns eine statistisch signifikante Differenz zwischen NRBC positiven und negativen Patienten zugeordnet werden: NRBC positive Patienten hatten eine deutlich geringere Compliance, was am Ehesten einen Hinweis auf eine vermehrte Starrheit und verminderte Dehnbarkeit des Lungengewebes darstellt. Die Erythroblasten fungieren also als Marker für eine schwere pulmonale Organdysfunktion, sowie eine erhöhte Morbidität. Dieser Zusammenhang korreliert in unserem Patientenkollektiv zudem konzentrationsabhängig. Je höher die Anzahl der Erythroblasten im peripheren Blut, desto höher die Mortalität und auch die Organdysfunktion.

Die Tendenzen der NRBC-Konzentrationen im Laufe der Zeit deuten darauf hin, dass das Verschwinden der Zellen aus der peripheren Zirkulation prognostisch protektiv wirkt. Es lässt sich die These aufstellen, dass das Verschwinden der Erythroblasten eine Rekompensation des Organversagens darstellen könnte. Stellt man die Patienten, die über einen langen Zeitraum NRBC positiv blieben gegenüber jene, die nach einer Phase der Positivität zum Ausgangswert zurückkehrten, nämlich ohne nachweisbare Zellen im peripheren Blut, so wird deutlich, dass letztere einen statistisch signifikanten Überlebensvorteil hatten. Unsere Untersuchungsergebnisse reproduzierten damit eine Signifikanz die Shah et al. auch in ihrer Studie zu Erythroblasten im peripheren Blut bei Patienten mit Sepsis nach chirurgischen Eingriffen feststellen konnten [49]. Auffällig ist bei dieser Beobachtung, dass unsere Patienten, die das ARDS überlebten, die höchste NRBC Konzentration bereits früher während ihres Intensivaufenthaltes aufwiesen, verglichen mit den verstorbenen Patienten, die im median zwei Tage später den Spitzenwert erreichten. Obwohl diese Beobachtung in unserer Studie nicht statistisch signifikant war, könnten NRBC Spitzenwerte zu einem späteren Zeitpunkt während des intensivstationären Aufenthaltes auf ein Fortschreiten der Erkrankung bei kritisch kranken Patienten hindeuten. Ob nachweisbare Konzentrationen von Erythroblasten im peripheren Blut über einen langen Zeitraum ohne zwischenzeitliche Negativierung als Indikator für Therapieversagen angesehen werden könnte, sollte jedoch in

weiterführenden prospektiven Studien evaluiert werden. Die von uns herangezogenen Daten sind nicht ausreichend, um diese Arbeitstheorie wissenschaftlich zu untersuchen.

Derzeit gibt es kein prognostisches Werkzeug, im Sinne eines Scores, für das Krankheitsbild ARDS, der die NRBC Konzentration beinhaltet. Ob die Betrachtung der Erythroblasten-Konzentrationen und deren Verlauf eine Verbesserung des Outcomes für Patienten nach sich ziehen könnte, bleibt zum jetzigen Zeitpunkt ungewiss. Denkbar ist durchaus, dass die Erythroblasten ein Tool darstellen könnten, anhand dessen die Aggravierung des Gesundheitszustandes der Patienten beobachtet werden kann. Wenn diese Zellen einen sich verschlechternden Zustand anzeigen, im Sinne einer ausbleibenden Negativierung oder ein Anstieg der Konzentration, könnte eine daraus folgende Therapieeskalation (beispielsweise Veränderung der antibiotischen Therapie oder Implementation einer extrakorporalen Membranoxygenierung) dazu beitragen die Überlebenschancen der Patienten zu verbessern. Um diese These zu validieren, bedarf es jedoch prospektiver randomisierter Studien, welche die Anwesenheit von Erythroblasten im peripheren Blut bei ARDS Patienten in die Methodik integrieren und weitere wichtige Informationen liefern, anhand derer uns diese Zellen effektiver als Parameter für die Prognostik des Acute Respiratory Distress Syndrome dienen können.

Ein bemerkenswertes Detail ist, das im Vergleich zu ähnlichen Studien, bei unserer Patientenkohorte eine weitaus höhere Prävalenz für Erythroblasten im peripheren Blut bestand. 75% der eingeschlossenen ARDS Patienten unserer Studie waren NRBC positiv. In einer Studie aus dem Jahre 2015 von de Moura Monteiro Júnior und Kollegen, bestand die gewählte Kohorte aus Patienten, die auf eine kardiologische Intensivstation aufgenommen wurden. Hier ergab sich eine Prävalenz von Erythroblasten im peripheren Blut von 54% [40]. Die ärztlichen Kollegen um Desai et al. aus Texas konnten bei ihrer Patientenkohorte mit Sepsis nach chirurgischen Eingriffen sogar lediglich eine Prävalenz von 17,5% nachweisen [18]. Auch Stachon et al. berechneten in ihrer Studie mit nicht-chirurgischen Intensivpatienten eine 17-prozentige Gesamtprävalenz von NRBC im peripheren Blut [54]. Zusätzlich zu diesem bedeutenden Unterschied in der Prävalenz der Erythroblasten, waren auch die Maximalkonzentrationen, die in unserer Patientenkohorte gemessen werden konnten, deutlich höher als in anderen vorangegangenen Studien. Bei Stachon et al. lag die einmalig nachweisbare NRBC Konzentration eines Patienten knapp unter 1300/ μl und stellte damit die höchste Messung der Studie dar [54]. Andere Kollegen definierten maximale Konzentrationen nicht eingehender. Häufig wählten sie für die Einteilung der Patienten mit hohen NRBC Werten die Gruppe „ $>200/\mu\text{l}$ “ [40, 45]. Da es in unserer Patientenkohorte viele

Messergebnisse gab, welche einen Schwellenwert von $>200/\mu\text{l}$ bei Weitem überschritten, wählten wir hier eine weitere Unterteilung der Maximalkonzentrationen. So konnten wir darstellen, dass bei Patienten mit ARDS die Konzentrationen der Erythroblasten im peripheren Blut um ein Vielfaches höher waren als bei vergleichbaren Arbeiten. In unserer Kohorte konnten wir bei 18 Patienten NRBC Konzentrationen von mehr als 10 000 Zellen je Mikroliter messen. Bei 9 von ihnen sogar Werte die eine Schwelle von 15 000 Zellen je Mikroliter überschritten. Damit liegen unsere gemessenen Maximalkonzentrationen bei diesen Patienten um mehr als das Zehnfache höher, als in der vergleichbaren Arbeit von Stachon et al. [54]. Diese Beobachtung unterstreicht erneut, dass die Genese der Erythroblastämie sehr wahrscheinlich inflammatorisch und hypoxisch ist. Da in unserer Patientenkohorte alle Patienten an einem ARDS litten, ergibt es Sinn, dass diese spezifische Kohorte eine höhere Inzidenz für Erythroblasten im peripheren Blut aufweist als vergleichbare Intensivkohorten mit gemischten Krankheitsbildern. Dieser Umstand könnte womöglich in Zukunft erleichtern, das ARDS klinisch zu identifizieren. Wie in der Einleitung beschrieben gibt es Daten, die darauf hinweisen, dass die Identifikation des ARDS selbst für erfahrene Intensivmediziner herausfordernd ist. Laut Daten aus der LUNG-SAFE Studie werden sogar beim schweren ARDS ca. 20% der Fälle nicht klinisch diagnostiziert und damit auch nicht adäquat therapiert [36]. Womöglich könnten in Zukunft NRBC positive Patienten mit ARDS-typischen Symptomen, die Konzentrationen über bestimmten Cut-off Werten aufzeigen, eine weiterführende spezifische Diagnostik erfahren, um damit die Erkennungsraten des Syndroms auf Intensivstationen zu optimieren.

Ein anderer klinisch interessanter Ansatz ist die Betrachtung der Erythroblasten im peripheren Blut als prognostisch protektiver Parameter bei sich einstellender Negativierung. Da die Ätiogenese der Erythroblastämie auf molekularer Ebene weitestgehend unbekannt ist, lässt sich derzeit nicht einschätzen, ob dieser von uns und anderen Autoren beobachtete Zusammenhang nur eine statistische Korrelation darstellt, oder es eventuell eine ursächliche Verbindung gibt. Wie bereits zuvor erwähnt, ist eine Theorie, dass das Verschwinden der Zellen aus dem peripheren Blut ein Zeichen der Rekompensation von Organfunktionen darstellen könnte.

Hierbei müssen zunächst die Pathophysiologie des ARDS und der Erythropoese betrachtet werden. Wie in der Einleitung beschrieben unterliegt die physiologische Regulation der Erythropoese diversen intrinsischen Faktoren und Mediatoren. Die Störung dieser Regulation durch Hyperinflammation und andere Prozesse, die im Rahmen von schwerer Krankheit ablaufen, fassten Weiss et al. in einem Review zum Thema „Anämie der Inflammation“

zusammen. Sie stellen beispielweise die These auf, dass es im Rahmen von akuten Inflammationen eine vermehrte Erythrozytenphagozytose, Hämolyse, oder Umverteilung der Erythrozyten, sowie ein Verdünnungseffekt zur akuten Anämie auch ohne aktive Blutung kommen könnte. Diese Anämie der kritischen Krankheit stellt sich meist Stunden oder wenige Tage nach Beginn der ersten Symptome ein. In Hinblick auf die Lebenserwartung eines Erythrozyten von 120 Tagen ist dies zu früh, um eine insuffiziente Erythropoese zugrundeliegend zu haben. Vielmehr weisen die Autoren daraufhin, dass es zumeist Zustände mit erhöhten Zytokinkonzentrationen sind, die eine solche Anämie der akuten Krankheit begünstigen [60]. Die systemische Inflammation des ARDS könnte also Mediatoren und Zytokine freisetzen, welche das blutbildende System und das Blut selbst in der physiologischen Funktion beeinflusst. Die Konzentrationsmaxima von Erythroblasten im peripheren Blut waren bei unserem Patientenkollektiv im Median 5-7 Tage nach Aufnahme auf die Intensivstation messbar. Im zeitlichen Zusammenhang betrachtet könnte also die Migration der Erythroblasten ins periphere Blut eine Antwort auf ein funktionell beeinträchtigt blutbildendes System sein. Bislang wurden schon diverse Zytokine und Mediatoren damit in Verbindung gebracht, die Erythropoese zu beeinträchtigen, wie beispielsweise IL-2, IL-6 und TNF- α . Erhöhte Konzentrationen von IL-3 und IL-6 wurden von Stachon et al. auf statistisch signifikantem Niveau mit NRBC Positivität in Verbindung gebracht [51]. Interessanterweise wurde in einer kürzlich veröffentlichten Studie eine Anakinra Therapie mit einer Mortalitätsreduktion bei schwerem COVID-19 ARDS in Zusammenhang gebracht. Anakinra ist ein Interleukin-1 Rezeptor Antagonist und wird in der Intensivmedizin als Off-Label Therapie eingesetzt, um sogenannte Zytokinstürme, also überschießende inflammatorische Reaktionen des Körpers, abzuschwächen. Die im Lancet Rheumatologie veröffentlichte Studie von Huet et al. konnte neben der reduzierten Mortalität in der Anakinra Kohorte auch eine verringerte Notwendigkeit für mechanische Beatmung nachweisen. Auch wenn das Design der Studie nur eingeschränkte Aussagekraft zulässt, ist es doch bemerkenswert, dass ein IL-1 Antagonist, der laut diverser Daten auch die Konzentrationen von IL-6 reduzieren kann, bei schwerem ARDS zu einer Abnahme der Mortalität geführt hat [28]. Weitere Untersuchungen im Rahmen von prospektiven Studien könnten zeigen, ob eine Therapie mit Anakinra bei schwerem ARDS auch die Konzentration der Erythroblasten im peripheren Blut beeinflusst. Die Erythroblasten im peripheren Blut als Indikation für eine Therapie zu nutzen ist insofern kein neuer Gedanke, als dass es bei der β -Thalassämie bereits solche Ansätze gab, die diskutiert wurden. Das Vorhandensein von Erythroblasten im peripheren Blut bei β -Thalassämie Patienten gilt bei vielen Hämatologen

als Hinweis auf erythropoetischen und hypoxischen Stress. Bei der Erkrankung kommt es zu einer ineffizienten Erythropoese gepaart mit Hämolyse. Daraus resultierend leiden die Patienten an einer chronischen Anämie und benötigen regelmäßige Transfusionen von Erythrozytenkonzentraten. Da häufige Transfusionen das Risiko für Eisenüberladung und die resultierenden pathologischen Folgen begünstigen, gibt es hier den Ansatz die Transfusionstherapie anhand der Konzentration der Erythroblasten im peripheren Blut zu steuern [7, 31]. Die Mehrheit der Intensivpatienten leidet natürlich nicht an einer kongenitalen Hämoglobinopathie, daher sind die Prozesse auf zellulärer Ebene, die zu einer Erythroblastämie führen, nicht übertragbar. Dieses Beispiel zeigt jedoch, dass die Idee NRBC als Parameter beziehungsweise Marker zu nutzen, um eine Therapie zu initiieren, bereits klinisch valide durchgeführt wird.

Eine Therapieeskalation mittels Anakinra oder auch Implementation einer extrakorporalen Oxygenierung sind dabei nur zwei theoretische Überlegungen. Jedwede Art von Therapieeskalation sollte dabei evidenzbasiert erfolgen, wofür es prospektive Studien braucht, die Erythroblasten als Parameter für Therapieversagen beziehungsweise Indikator für Therapieeskalation untersuchen.

5.3 Limitationen

Die hier vorgestellte Studie hat diverse Einschränkungen hinsichtlich ihrer Aussagekraft. Allen voran steht ihr retrospektiver Charakter und die begrenzte Fallzahl der gewählten Kohorte. Da nur Patienten eingeschlossen wurden, bei denen es Messungen zu NRBC Konzentrationen gab, könnte ein Selektionsbias erzeugt haben, welcher vor allem kritisch kranke Patienten in der Studienkohorte generierte. Zusätzlich ist es möglich, dass die hohe Prävalenz, mit der wir uns konfrontiert sahen, durch hochfrequente Messungen erzeugt wurde, da vice versa niederfrequente Messungen die Wahrscheinlichkeit verringert hätten, mit der man bei transient detektierbaren Erythroblastenkonzentrationen eine NRBC Positivität festgestellt hätte. Außerdem muss man betonen, dass es sich bei der Station 8i des Virchow-Klinikums um ein überregionales ARDS Schwerpunkt-Zentrum handelt. Das Patientenklintel der Station besteht zu teilweise hohen Prozentsätzen aus Patienten, die von anderen Kliniken übernommen werden, da der kritische Gesundheitszustand oder das schwere Krankheitsbild des ARDS eine Betreuung auf weniger spezialisierten Intensivstationen erschwerte. Somit weisen auch die eingeschlossenen Patienten der hier untersuchten Kohorte in der Tendenz einen kritischeren Schweregrad ihres klinischen Zustandes auf, als womöglich auf anderen Intensivstationen des Landes der Fall ist. Dieser Umstand spiegelte sich auch in den durchweg hohen Schweregrad-Scores wider. Wohlbemerkt lag auch die Gesamtmortalität der Patienten unserer Studie, unabhängig von den betrachteten Erythroblastenkonzentrationen deutlich über der Gesamtmortalität in vergleichbaren Studien [18, 40, 54]. Aufgrund dessen sollte die Generalisierung der hier erhobenen Resultate und Grenzwerte oder eine Anwendbarkeit auf andere ARDS-Kohorten nur mit Vorsicht erfolgen.

5.4 Schlussfolgerung

Das ARDS bleibt ein lebensbedrohliches Krankheitsbild der für intensivmedizinisches Personal eine große Herausforderung darstellt. Trotz verbesserter Behandlungsregime und medizinischen Fortschritten wie im Bereich der mechanischen Ventilation und extrakorporalen Organersatzverfahren, bleibt es eine Erkrankung an der mehr als ein Drittel aller Patienten im Verlauf verstirbt. Ein zentrales Problem bei der Therapie des ARDS stellen das Management von Sepsis und Multiorganversagen, sowie die Behandlung der zugrundeliegenden Ursache dar, welche damit eine wichtige Rolle bei der Verbesserung der Prognose der Patienten darstellen [36, 37]. Das Monitoring von Erythroblasten im peripheren Blut ermöglicht die Etablierung eines laborchemischen Parameters, der sich in Bezug auf das Outcome der Patienten als prognostisch hoch aussagekräftig erweisen konnte. Die Höhe der Konzentration der NRBC im Blut identifiziert dabei eine arterielle Hypoxämie und eine erweiterte Einschätzung des Schweregrades des Krankheitsbildes. Patienten mit hohen Konzentrationen von NRBC im peripheren Blut sind statistisch einem höheren Risiko für ein Versterben auf Intensivstation ausgesetzt. Daher könnte die Konzentration der Erythroblasten im peripheren Blut in Zukunft als ein Parameter für die Prognose der Patienten mit ARDS dienen. Ob die Erythroblasten bei zum Beispiel steigender Konzentration oder ausbleibender Negativierung auch additiv als Indikator zur Therapieeskalation genutzt werden könnten, bleibt zum jetzigen Zeitpunkt fraglich. Weitere Untersuchungen dieser Zellen und ihr Verhalten bei schwer und schwerst kranken Patienten könnten perspektivisch Mortalität und Outcome dieser Patienten verbessern.

6 Literatur

1. Acute Respiratory Distress Syndrome Network, Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, Wheeler A (2000) Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342:1301–1308. doi: 10.1056/NEJM200005043421801
2. Amato MBP, Meade MO, Slutsky AS, Brochard L, Costa ELV, Schoenfeld DA, Stewart TE, Briel M, Talmor D, Mercat A, Richard J-CM, Carvalho CRR, Brower RG (2015) Driving Pressure and Survival in the Acute Respiratory Distress Syndrome. *N Engl J Med* 372:747–755. doi: 10.1056/NEJMs1410639
3. ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, Camporota L, Slutsky AS (2012) Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 307:2526–2533. doi: 10.1001/jama.2012.5669
4. Balzer F, Menk M, Ziegler J, Pille C, Wernecke K-D, Spies C, Schmidt M, Weber-Carstens S, Deja M (2016) Predictors of survival in critically ill patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): an observational study. *BMC Anesthesiol* 16. doi: 10.1186/s12871-016-0272-4
5. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, Gattinoni L, van Haren F, Larsson A, McAuley DF, Ranieri M, Rubenfeld G, Thompson BT, Wrigge H, Slutsky AS, Pesenti A, LUNG SAFE Investigators, ESICM Trials Group (2016) Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA* 315:788–800. doi: 10.1001/jama.2016.0291
6. Brun-Buisson C, Minelli C, Bertolini G, Brazzi L, Pimentel J, Lewandowski K, Bion J, Romand J-A, Villar J, Thorsteinsson A, Damas P, Armaganidis A, Lemaire F, ALIVE Study Group (2004) Epidemiology and outcome of acute lung injury in European intensive care units. Results from the ALIVE study. *Intensive Care Med* 30:51–61. doi: 10.1007/s00134-003-2022-6
7. Buoro S, Vavassori M, Pipitone S, Benegiamo A, Lochis E, Fumagalli S, Falanga A, Marchetti M, Crippa A, Ottomano C, Lippi G (2015) Evaluation of nucleated red blood cell count by Sysmex XE-2100 in patients with thalassaemia or sickle cell anaemia and in neonates. *Blood Transfus.* doi: 10.2450/2015.0283-14
8. Burkett LL, Cox ML, Fields ML (1965) Leukoerythroblastosis in the adult. *Am J Clin Pathol* 44:494–498. doi: 10.1093/ajcp/44.5.494
9. Burnham EL, Janssen WJ, Riches DWH, Moss M, Downey GP (2014) The fibroproliferative response in acute respiratory distress syndrome: mechanisms and clinical significance. *Eur Respir J* 43:276–285. doi: 10.1183/09031936.00196412

10. Cabrera-Benitez NE, Laffey JG, Parotto M, Spieth PM, Villar J, Zhang H, Slutsky AS (2014) Mechanical Ventilation–associated Lung Fibrosis in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Anesthesiology* 121:189–198. doi: 10.1097/ALN.0000000000000264
11. Chiumello D, Coppola S, Froio S, Gotti M (2016) What’s Next After ARDS: Long-Term Outcomes. *Respir Care* 61:689–699. doi: 10.4187/respcare.04644
12. Combes A, Schmidt M, Hodgson CL, Fan E, Ferguson ND, Fraser JF, Jaber S, Pesenti A, Ranieri M, Rowan K, Shekar K, Slutsky AS, Brodie D (2020) Extracorporeal life support for adults with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 46:2464–2476. doi: 10.1007/s00134-020-06290-1
13. Cremer M, Roll S, Gräf C, Weimann A, Bühner C, Dame C (2015) Nucleated red blood cells as marker for an increased risk of unfavorable outcome and mortality in very low birth weight infants. *Early Hum Dev* 91:559–563. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2015.06.004
14. Cutts S, Talboys R, Paspula C, Ail D, Prempeh EM, Fanous R (2016) History of acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 4:547–548. doi: 10.1016/S2213-2600(16)30087-X
15. Da Rin G, Vidali M, Balboni F, Benegiamo A, Borin M, Ciardelli ML, Dima F, Di Fabio A, Fanelli A, Fiorini F, Francione S, Germagnoli L, Gioia M, Lari T, Lorubbio M, Marini A, Papa A, Seghezzi M, Solarino L, Pipitone S, Tilocca E, Buoro S (2017) Performance evaluation of the automated nucleated red blood cell count of five commercial hematological analyzers. *Int J Lab Hematol* 39:663–670. doi: 10.1111/ijlh.12722
16. Danise P, Maconi M, Barrella F, Di Palma A, Avino D, Rovetti A, Gioia M, Amendola G (2012) Evaluation of nucleated red blood cells in the peripheral blood of hematological diseases. *Clin Chem Lab Med CCLM* 50. doi: 10.1515/cclm.2011.766
17. Deja M, Hommel M, Weber-Carstens S, Moss M, von Dossow V, Sander M, Pille C, Spies C (2008) Evidence-based Therapy of Severe Acute Respiratory Distress Syndrome: An Algorithm-guided Approach. *J Int Med Res* 36:211–221. doi: 10.1177/147323000803600201
18. Desai S, Jones SL, Turner KL, Hall J, Moore LJ (2012) Nucleated Red Blood Cells Are Associated with a Higher Mortality Rate in Patients with Surgical Sepsis. *Surg Infect* 13:360–365. doi: 10.1089/sur.2011.089
19. Dulay AT, Buhimschi IA, Zhao G, Luo G, Abdel-Razeq S, Cackovic M, Rosenberg VA, Pettker CM, Thung SF, Bahtiyar MO, Bhandari V, Buhimschi CS (2008) Nucleated red blood cells are a direct response to mediators of inflammation in newborns with early-onset neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 198:426.e1–9. doi: 10.1016/j.ajog.2008.01.040
20. Dzierzak E, Philipsen S (2013) Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold*

Spring Harb Perspect Med 3:a011601. doi: 10.1101/cshperspect.a011601

21. Ferreira FL (2001) Serial Evaluation of the SOFA Score to Predict Outcome in Critically Ill Patients. *JAMA* 286:1754. doi: 10.1001/jama.286.14.1754
22. Fichtner F, Mörer O, Laudi S, Weber-Carstens S, Nothacker M, Kaisers U (2018) Mechanical Ventilation and Extracorporeal Membrane Oxygenation in Acute Respiratory Insufficiency. *Dtsch Arztebl Int*. doi: 10.3238/arztebl.2018.0840
23. Frat J-P, Thille AW, Mercat A, Girault C, Ragot S, Perbet S, Prat G, Boulain T, Morawiec E, Cottreau A, Devaquet J, Nseir S, Razazi K, Mira J-P, Argaud L, Chakarian J-C, Ricard J-D, Wittebole X, Chevalier S, Herbland A, Fartoukh M, Constantin J-M, Tonnelier J-M, Pierrot M, Mathonnet A, Béduneau G, Delétage-Métreau C, Richard J-CM, Brochard L, Robert R (2015) High-Flow Oxygen through Nasal Cannula in Acute Hypoxemic Respiratory Failure. *N Engl J Med* 372:2185–2196. doi: 10.1056/NEJMoa1503326
24. Ganz T (2019) Erythropoietic regulators of iron metabolism. *Free Radic Biol Med* 133:69–74. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.003
25. Groen J, Godfried EG (1948) The occurrence of normoblasts in the peripheral blood in congestive heart failure; an indication of unfavorable prognosis. *Blood* 3:1445–1452. doi: <https://doi.org/10.1182/blood.V3.12.1445.1445>
26. Hadaya J, Benharash P (2020) Prone Positioning for Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS). *JAMA* 324:1361. doi: 10.1001/jama.2020.14901
27. Higgins JM (2015) Red Blood Cell Population Dynamics. *Clin Lab Med* 35:43–57. doi: 10.1016/j.cll.2014.10.002
28. Huet T, Beaussier H, Voisin O, Jouveshomme S, Dauriat G, Lazareth I, Sacco E, Naccache J-M, Bézie Y, Laplanche S, Le Berre A, Le Pavec J, Salmeron S, Emmerich J, Mourad J-J, Chatellier G, Hayem G (2020) Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *Lancet Rheumatol* 2:e393–e400. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30164-8
29. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB (2019) Pathogenesis of Acute Respiratory Distress Syndrome. *Semin Respir Crit Care Med* 40:31–39. doi: 10.1055/s-0039-1683996
30. Jelkmann W (2011) Regulation of erythropoietin production: Erythropoietin production. *J Physiol* 589:1251–1258. doi: 10.1113/jphysiol.2010.195057
31. Karakukcu M, Karakukcu C, Unal E, Ozturk A, Ciraci Z, Patiroglu T, Ozdemir M (2015) The Importance of Nucleated Red Blood Cells in Patients with Beta Thalassemia Major and Comparison of Two Automated Systems with. *Clin Lab* 61. doi: 10.7754/Clin.Lab.2015.141250

32. Klei TRL, Meinderts SM, van den Berg TK, van Bruggen R (2017) From the Cradle to the Grave: The Role of Macrophages in Erythropoiesis and Erythrophagocytosis. *Front Immunol* 8. doi: 10.3389/fimmu.2017.00073
33. Kuert S, Holland-Letz T, Friese J, Stachon A (2011) Association of nucleated red blood cells in blood and arterial oxygen partial tension. *Clin Chem Lab Med* 49. doi: 10.1515/CCLM.2011.041
34. Lehnhardt M, Katzy Y, Langer S, Druecke D, Homann HH, Steinstraesser L, Steinau HU, Stachon A (2005) Prognostic significance of erythroblasts in burns. *Plast Reconstr Surg* 115:120–127. doi: 10.1097/01.PRS.0000138809.15740.8C
35. Liang R, Ghaffari S (2016) Advances in understanding the mechanisms of erythropoiesis in homeostasis and disease. *Br J Haematol* 174:661–673. doi: 10.1111/bjh.14194
36. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, Arabi YM, Beitler JR, Mercat A, Herridge M, Randolph AG, Calfee CS (2019) Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primer* 5. doi: 10.1038/s41572-019-0069-0
37. Meyer NJ, Gattinoni L, Calfee CS (2021) Acute respiratory distress syndrome. *The Lancet* 398:622–637. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00439-6
38. Minior VK, Levine B, Ferber A, Guller S, Divon MY (2017) Nucleated Red Blood Cells as a Marker of Acute and Chronic Fetal Hypoxia in a Rat Model. *Rambam Maimonides Med J* 8. doi: 10.5041/RMMJ.10302
39. Minne L, Abu-Hanna A, de Jonge E (2009) Evaluation of SOFA-based models for predicting mortality in the ICU: A systematic review. *Crit Care* 12:R161. doi: 10.1186/cc7160
40. Monteiro Júnior JG de M, Torres D de OC, da Silva MCFC, Ramos TM de B, Alves ML, Filho WJN, Damasceno EP, Brunet AF, Bittencourt MS, Pedrosa RP, Filho DCS (2015) Nucleated Red Blood Cells as Predictors of All-Cause Mortality in Cardiac Intensive Care Unit Patients: A Prospective Cohort Study. *PLOS ONE* 10:e0144259. doi: 10.1371/journal.pone.0144259
41. Moreno R, Vincent J-L, Matos R, Mendonça A, Cantraine F, Thijs L, Takala J, Sprung C, Antonelli M, Bruining H, Willatts S (1999) The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. *Intensive Care Med* 25:686–696. doi: 10.1007/s001340050931
42. Pasricha S-R, McHugh K, Drakesmith H (2016) Regulation of Hepcidin by Erythropoiesis: The Story So Far. *Annu Rev Nutr* 36:417–434. doi: 10.1146/annurev-nutr-071715-050731

43. Pham T, Rubenfeld GD (2017) Fifty Years of Research in ARDS. The Epidemiology of Acute Respiratory Distress Syndrome. A 50th Birthday Review. *Am J Respir Crit Care Med* 195:860–870. doi: 10.1164/rccm.201609-1773CP
44. Prisk GK, Yamada K, Henderson AC, Arai TJ, Levin DL, Buxton RB, Hopkins SR (2007) Pulmonary perfusion in the prone and supine postures in the normal human lung. *J Appl Physiol Bethesda Md* 103:883–894. doi: 10.1152/jappphysiol.00292.2007
45. Purtle SW, Horkan CM, Moromizato T, Gibbons FK, Christopher KB (2017) Nucleated red blood cells, critical illness survivors and postdischarge outcomes: a cohort study. *Crit Care* 21. doi: 10.1186/s13054-017-1724-z
46. Santos RS, Silva PL, Rocco JR, Pelosi P, Rocco PRM (2016) A mortality score for acute respiratory distress syndrome: predicting the future without a crystal ball. *J Thorac Dis* 8:1872–1876. doi: 10.21037/jtd.2016.06.76
47. Schreier S, Triampo W (2020) The Blood Circulating Rare Cell Population. What is it and What is it Good For? *Cells* 9:790. doi: 10.3390/cells9040790
48. Schwartz SO (1954) SIGNIFICANCE OF NUCLEATED RED BLOOD CELLS IN PERIPHERAL BLOOD: ANALYSIS OF 1,496 CASES. *J Am Med Assoc* 154:1339. doi: 10.1001/jama.1954.02940500019007
49. Shah R, Reddy S, Horst HM, Stassinopoulos J, Jordan J, Rubinfeld I (2012) Getting back to zero with nucleated red blood cells: following trends is not necessarily a bad thing. *Am J Surg* 203:343–345; discussion 345-346. doi: 10.1016/j.amjsurg.2011.10.002
50. Stachon A, Becker A, Holland-Letz T, Friese J, Kempf R, Krieg M (2008) Estimation of the Mortality Risk of Surgical Intensive Care Patients Based on Routine Laboratory Parameters. *Eur Surg Res* 40:263–272. doi: 10.1159/000113106
51. Stachon A, Bolulu O, Holland-Letz T, Krieg M (2005) Association between nucleated red blood cells in blood and the levels of erythropoietin, interleukin 3, interleukin 6, and interleukin 12p70. *Shock Augusta Ga* 24:34–39. doi: 10.1097/01.shk.0000164693.11649.91
52. Stachon A, Holland-Letz T, Krieg M (2004) High in-hospital mortality of intensive care patients with nucleated red blood cells in blood. *Clin Chem Lab Med CCLM* 42. doi: 10.1515/CCLM.2004.151
53. Stachon A, Kempf R, Holland-Letz T, Friese J, Becker A, Krieg M (2006) Daily monitoring of nucleated red blood cells in the blood of surgical intensive care patients. *Clin Chim Acta* 366:329–335. doi: 10.1016/j.cca.2005.11.022
54. Stachon A, Segbers E, Holland-Letz T, Kempf R, Hering S, Krieg M (2007) Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality

risk: a prospective cohort study. *Crit Care* 11:R62. doi: 10.1186/cc5932

55. Stachon A, Sondermann N, Imohl M, Krieg M (2002) Nucleated red blood cells indicate high risk of in-hospital mortality. *J Lab Clin Med* 140:407–412. doi: 10.1067/mlc.2002.129337

56. Torino ABB, Gilberti M de FP, da Costa E, de Lima GAF, Grotto HZW (2015) Evaluation of erythrocyte and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease. *Rev Bras Hematol E Hemoter* 37:77–81. doi: 10.1016/j.bjhh.2015.02.004

57. Touchon F, Trigui Y, Prud'homme E, Lefebvre L, Giraud A, Dols A-M, Martinez S, Bernardi M, Begne C, Granier P, Chanez P, Forel J-M, Papazian L, Elharrar X (2021) Awake prone positioning for hypoxaemic respiratory failure: past, COVID-19 and perspectives. *Eur Respir Rev* 30:210022. doi: 10.1183/16000617.0022-2021

58. Valent P, Büsche G, Theurl I, Uras IZ, Germing U, Stauder R, Sotlar K, Füreder W, Bettelheim P, Pfeilstöcker M, Oberbauer R, Sperr WR, Geissler K, Schwaller J, Moriggl R, Béné MC, Jäger U, Horny H-P, Hermine O (2018) Normal and pathological erythropoiesis in adults: from gene regulation to targeted treatment concepts. *Haematologica* 103:1593–1603. doi: 10.3324/haematol.2018.192518

59. Warner MA, Hanson AC, Frank RD, Schulte PJ, Go RS, Storlie CB, Kor DJ (2020) Prevalence of and Recovery From Anemia Following Hospitalization for Critical Illness Among Adults. *JAMA Netw Open* 3:e2017843. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.17843

60. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT (2019) Anemia of inflammation. *Blood* 133:40–50. doi: 10.1182/blood-2018-06-856500

61. Yeo JH, Lam YW, Fraser ST (2019) Cellular dynamics of mammalian red blood cell production in the erythroblastic island niche. *Biophys Rev* 11:873–894. doi: 10.1007/s12551-019-00579-2

62. Zhao B, Mei Y, Yang J, Ji P (2016) Erythropoietin-regulated oxidative stress negatively affects enucleation during terminal erythropoiesis. *Exp Hematol* 44:975–981. doi: 10.1016/j.exphem.2016.06.249

Eidesstaatliche Versicherung

„Ich, Lena Giebelhäuser, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Erythroblasten im peripheren Blut als prognostischer Parameter für Mortalität bei Patienten mit akutem Lungenversagen“ („Nucleated red blood cells in the peripheral blood as a prognostic parameter for mortality in patients with ARDS“) selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilsklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Lena Giebelhäuser hatte Anteil an folgenden Publikationen:

Mario Menk, Lena Giebelhäuser, Gerald Vorderwülbecke, Martina Gassner, Jan Adriaan Graw, Björn Weiss, Mathias Zimmermann, Klaus-Dieter Wernecke, Steffen Weber-Carstens:

Nucleated red blood cells as predictors of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): an observational study.

Annals of Intensive Care, 2018 Mar 27;8(1):42.

doi: 10.1186/s13613-018-0387-5.

PMID: 29589209;

PMCID: PMC5869325.

Die Idee und Konzeption der Arbeit wurde von Herrn Menk gestellt. Die Datenerhebung erfolgte durch Frau Giebelhäuser unter Mithilfe von Herrn Vorderwülbecke. Die Auswertung und Interpretation der gesammelten Daten wurde durch Herrn Menk, Frau Giebelhäuser und Herrn Wernecke durchgeführt. Aus der statistischen Datenauswertung von Herrn Menk, Frau Giebelhäuser und Herrn Wernecke sind die Darstellungen 3 bis 14, sowie die Tabellen 1 bis 3 entstanden. Die Darstellungen 1 und 2 wurden von Frau Giebelhäuser entworfen.

Federführender Autor bei der Erstellung des Papers war Herr Menk in enger Zusammenarbeit mit Frau Giebelhäuser. Die Koautoren waren an der Korrektur des Papers beteiligt.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift Doktorandin

Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf ist in der elektronischen Version der Dissertation aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten.

Publikationsliste

Publikationen in wissenschaftlichen Journals

1. Menk M, Giebelhäuser L, Vorderwülbecke G, Gassner M, Graw JA, Weiss B, Zimmermann M, Wernecke KD, Weber-Carstens S. „Nucleated red blood cells as predictors of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome (ARDS): an observational study.“ *Ann Intensive Care*. 2018 Mar 27;8(1):42. doi: 10.1186/s13613-018-0387-5. PMID: 29589209; PMCID: PMC5869325. (Impact Factor 2020 4.124)

Danksagung

Ich möchte mich bei PD Dr. med. Mario Menk für die konstruktive und geduldige Betreuung dieser Arbeit bedanken. Insbesondere für den respektvollen und verständnisvollen Umgang zu jedem Zeitpunkt der Zusammenarbeit. Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Klaus-Dieter Wernecke für die fachlich hochkompetente Zusammenarbeit bei der statistischen Auswertung.

Vielen Dank an Gerald Vorderwülbecke für das stets kollegiale und freundschaftliche Miteinander während der Datenakquirierung.

Ich danke meinen Freunden und meiner Familie für das stets aufgebrachte Verständnis und die Unterstützung.