

**Zytokinprofil bei Patienten mit  
nekrotisierender Faszitis**

vorgelegt von  
Kathrin Lungstras-Bufler  
aus  
Hiltrup  
2004

Aus der  
Abteilung für Klinische Pharmakologie  
Leiter: Prof. Dr. med. Stefan Endres  
Medizinische Klinik Innenstadt  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Martin Reincke

und der

Abteilung für Infektiologie  
University of Colorado Health Sciences Center  
Denver, Colorado, USA  
Prof. Charles A. Dinarello MD

**Zytokinprofil bei Patienten mit  
nekrotisierender Faszitis**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Kathrin Lungstras-Bufler  
aus  
Hiltrup  
2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Stefan Endres

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Burckhard Fichtl

Mitbetreuung durch die  
promovierten Mitarbeiter: Prof. Charles A. Dinarello MD  
Dr. med. Britta Siegmund  
Dr. med. Philip Bufler

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 09.03.2006

Gewidmet  
Philip, Jakob, David und Johannes

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>Seite</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	1
1.1 Einleitung und Fragestellung .....	1
1.2 Nekrotisierende Faszitis .....	2
1.2.1 Prädilektionsstellen und Risikofaktoren der nekrotisierenden Faszitis .....	2
1.2.2 Erregerspektrum .....	3
1.2.3 Klinisches Bild .....	3
1.2.4 Diagnostik.....	4
1.2.5 Therapie .....	5
1.3 Zytokine als klinische Verlaufsparemeter .....	5
1.3.1 Interleukin -1 $\beta$ .....	6
1.3.2 Interleukin-1-Rezeptorantagonist.....	6
1.3.3 Interleukin-18.....	7
1.3.4 Interleukin-6.....	8
1.3.5 Interleukin-8.....	8
1.3.6 Interferon- $\gamma$ .....	9
1.4 Grundlage der vorliegenden Studie.....	9
<b>2 Material und Methoden</b> .....	10
2.1 Studienprotokoll.....	10
2.2 Patienten .....	10
2.3 Serumproben .....	11
2.4 Reagenzien und Antikörper .....	12
2.5 Messung der Zytokine .....	13
2.6 Statistische Auswertung .....	15
<b>3 Ergebnisse</b> .....	17
3.1 Klinische Charakteristika der Patientengruppen.....	17
3.2 Bakteriologische Ergebnisse.....	19
3.3 Serumzytokinspiegel bei Aufnahme .....	21
3.4 Leukozytenwerte bei Aufnahme .....	22
3.5 Serumzytokinspiegel im Verlauf .....	23
3.6 Korrelation der Zytokine bei Aufnahme .....	25
3.7 Korrelation der Leukozyten und Zytokine bei Aufnahme.....	27
3.8 Korrelation der Zytokine im Zeitverlauf .....	28

---

3.9	Zeitverlauf der Serumzytokinspiegel .....	29
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>31</b>
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	31
4.2	Methodendiskussion .....	32
4.2.1	<i>Studiendesign</i> .....	32
4.2.2	<i>Serumzytokine</i> .....	32
4.2.3	<i>Elektrochemilumineszenz als Methode zur Zytokinmessung</i> .....	33
4.3	Ergebnisinterpretation im Vergleich zur Literatur.....	33
4.3.1	<i>Klinische Charakteristika der Patienten mit nekrotisierender Faszitis</i> .....	33
4.3.2	<i>Bakteriologische Ergebnisse</i> .....	35
4.3.3	<i>Leukozytenwerte bei Aufnahme</i> .....	35
4.3.4	<i>Serumzytokinspiegel bei Aufnahme</i> .....	36
4.3.5	<i>Serumzytokinspiegel im Verlauf</i> .....	37
4.3.6	<i>Korrelation von Zytokinen und Blutleukozyten</i> .....	38
4.4	Klinische Relevanz der Ergebnisse .....	39
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>42</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>51</b>

---

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
cDNA	Korrespondierende Desoxyribonukleinsäure
CRP	C-reaktives Protein
ECL	Elektrochemilumineszenz
ELISA	Enzym-gekoppelter Immunoassay
HIV	Human immunodeficiency virus
IFN $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IL	Interleukin
IL-1Ra	Interleukin-1-Rezeptorantagonist
i. v.	Intravenös
LPS	Lipopolysaccharid
MI	Myokardinfarkt
NF	Nekrotisierende Fasziiitis
NF/D	Verstorbene mit nekrotisierender Fasziiitis
NF/S	Überlebende mit nekrotisierender Fasziiitis
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimideester
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
Staph.	Staphylokokken
TAG	Ruthenium
TPA	Tripopylamin

# 1 Einleitung

## 1.1 Einleitung und Fragestellung

In den letzten zwei Jahrzehnten setzten sich viele Forschungsgruppen mit der Vorhersehbarkeit des klinischen Verlaufs von kritisch kranken Patienten mit schweren Infektionen auseinander. Trotz des Einsatzes moderner Antibiotika ist die Mortalität z. B. der Sepsis mit 30-40% immer noch sehr hoch (van der Poll, 2001). Unter der Annahme, dass ein frühes therapeutisches Eingreifen die Prognose verbessert, wurde und wird intensiv nach Parametern gesucht, die eine frühe Diagnose schwerer Infektionen erlauben, bevor sich der Zustand der Patienten verschlechtert. So wurden in einer Vielzahl von retro- oder prospektiven Studien die Serumspiegel verschiedener Blutparameter mit der Morbidität und Mortalität bei Sepsis korreliert. Zu den am meisten untersuchten Parametern gehören das C-reaktive Protein (CRP), Procalcitonin und Interleukin (IL-) 6. In neueren Studien zeigte sich z. B. Procalcitonin im Vergleich zu CRP oder IL-6 als prognostisch besserer Parameter für den Schweregrad einer Infektion (Brunkhorst et al., 2002; Lacour et al., 2001; Mandi et al., 2000; Schroder et al., 1999). Eindrucksvoll wurde in der Studie von Küster und Kollegen bei Frühgeborenen gezeigt, dass IL-6 und auch der Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1Ra) bereits zwei Tage vor der Diagnosestellung einer Sepsis signifikant erhöht und der Bestimmung von CRP überlegen waren (Küster et al., 1998).

Ein Beispiel für eine häufig letal endende Infektion ist die nekrotisierende Fasziiitis (NF). Grundlage der vorliegenden Arbeit ist eine prospektive klinische Studie, in der über maximal 36 Stunden nach Aufnahme das Zytokinprofil von Patienten mit Verdacht auf NF bestimmt wurde. Bei fünfzehn von zwanzig Patienten wurde die Diagnose NF bestätigt. Fünf Patienten hatten eine Zellulitis und weitere fünf Patienten mit Myokardinfarkt wurden als Kontrollgruppe eingeschlossen.

Mit Hilfe dieser Studie soll die Frage beantwortet werden, ob die Messung von Serumzytokinen zu einer frühzeitigen Diagnosefindung und Abschätzung der Prognose



bei NF beitragen und daraus resultierend durch frühzeitige Einleitung einer aggressiven Therapie zu einer Verbesserung der Überlebensrate führen kann.

## 1.2 Nekrotisierende Fasziiitis

Nekrotisierende Fasziiitis ist eine seltene, ungewöhnlich schwere Infektion der Faszien und des Subkutangewebes (Swartz, 1995). Die NF ist schon seit der Antike bekannt (Finegold, 1980) und wurde unter verschiedenen Namen beschrieben. 1952 führte Wilson den Begriff „Nekrotisierende Fasziiitis“ ein und ersetzte damit Bezeichnungen wie „*hospital gangrene, acute cutaneous gangrene, nonclostridial crepitant cellulitis*“ (Wilson, 1952). NF tritt bevorzugt im Erwachsenenalter auf (Fustes-Morales et al., 2002; Wilson and Haltalin, 1973). Es wurden aber auch Fälle im Kindesalter und bei Neugeborenen beschrieben (Hsieh et al., 1999).

In einer Metaanalyse zu Studien mit NF wird eine kumulative Mortalitätsrate von 31% beschrieben (Bilton et al., 1998), welche in individuellen Kohorten 50% überschreiten kann. Die hohe Mortalität ist meistens verursacht durch eine ausgeprägte Sepsis und sekundäres Organversagen (Francis et al., 1993). Die wichtigste Differenzialdiagnose zur NF im Anfangsstadium der Erkrankung ist die Zellulitis. Die Zellulitis ist eine Infektion des subkutanen Gewebes ohne Beteiligung der Muskelfaszien (Mandell et al., 1995).

### 1.2.1 Prädilektionsstellen und Risikofaktoren der nekrotisierenden Fasziiitis

Die NF kann an jeder Stelle des Körpers auftreten, am häufigsten sind die Extremitäten, insbesondere die Beine, betroffen (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; Cunningham et al., 2001; Sharma et al., 2002; Sudarsky et al., 1987). Weitere Prädilektionsstellen sind der Rumpf, die Bauchwand, Hals und Kopfbereich, die Anal- und Leistengegend, sowie postoperative Wundgebiete (Casali et al., 1980; Lewis, 1998). Bei Kindern ist meistens der Rumpf betroffen (Kosloske et al., 1981) und bei Neugeborenen geht die NF häufig von einer Nabelinfektion aus (Kosloske et al., 1981; Ryan et al., 1993). Die Keimeintrittspforte ist oft verursacht durch ein Trauma

(Lazeration, Abrasion, intravenöse Drogeninjektionen, Verbrennung oder Insektenstich), eine Laparatomie oder andere chirurgische Eingriffe, perirektale Abzesse oder Dekubitusgeschwüre (Sudarsky et al., 1987).

Es werden unterschiedliche Risikofaktoren für die NF angegeben: Diabetes mellitus, intravenöser Drogenabusus, Adipositas, Mangelernährung (Bosshardt et al., 1996; Elliott et al., 1996; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987) und periphere Gefäßerkrankung (Elliott et al., 1996; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Interessanterweise können aber auch junge gesunde Patienten mit kleinsten Hautläsionen das Bild einer NF entwickeln.

### 1.2.2 Erregerspektrum

Anfänglich wurde angenommen, dass die NF ausschließlich durch  $\beta$ -hämolyisierende Streptokokken verursacht würde. Neuere Arbeiten zeigen, dass es sich meistens um eine polymikrobielle Infektion mit vorwiegend Gram-positiven Erregern handelt. In den retrospektiven Analysen von Childers und Singh wird eine Besiedelung mit  $\beta$ -hämolyisierenden *Streptokokken* in nur 32% bzw. 16% der Patienten angegeben (Childers et al., 2002; Singh et al., 1996). Die am häufigsten in beiden Studien nachgewiesenen Keime sind  $\alpha$ - und  $\gamma$ -hämolyisierende *Streptokokken* bei Childers und *Staphylococcus (Staph.) aureus* in der Studie von Singh und Kollegen. Neben aeroben Bakterien können in selteneren Fällen auch anaerobe Bakterien beteiligt sein. Hier überwiegen *Bacteriodes spp*, anaerobe Kokken und *Clostridium spp* (Childers et al., 2002; McHenry et al., 1995; Singh et al., 1996). Ähnliche Ergebnisse werden auch von Bosshardt und Kollegen berichtet (Bosshardt et al., 1996).

### 1.2.3 Klinisches Bild

Das klinische Erscheinungsbild der NF ist anfangs uncharakteristisch. Das betroffene Hautareal ist ohne scharfe Abgrenzung gerötet, geschwollen und glänzend (Sudarsky et al., 1987). Typischerweise ist das betroffene Areal jedoch ausgesprochen empfindlich und schmerzhaft. Das Missverhältnis zwischen starker Ausprägung der angegebenen Schmerzen und sonstigem klinischen Bild sollte deshalb den Kliniker an die Diagnose einer NF denken lassen (Childers et al., 2002; Elliott et al., 1996; Majeski and Majeski,

1997; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Innerhalb weniger Tage verändert sich das Hautbild mit wechselnder Hautfarbe von lila-rot zu blau-grau und nach drei bis fünf Tagen zeigen sich Blasen mit pink-lila gefärbter Flüssigkeit und eine offene Hautangrän. Zu diesem Zeitpunkt wird der betroffene Hautbezirk gefühllos. Spätestens dieses Zeichen sollte auf die Diagnose der NF aufmerksam werden lassen. Bei einer Infektion mit gasbildenden Bakterien lässt sich typischerweise eine subkutane Gasbildung mit Krepitationen nachweisen. Die Körpertemperatur wird oft schon im frühen Stadium der Erkrankung als erhöht beschrieben (Bosshardt et al., 1996; Elliott et al., 1996; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987).

#### 1.2.4 Diagnostik

Häufig geht die NF mit einer Leukozytose einher (Elliott et al., 1996; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Blutkulturen sind nicht immer positiv. Bei fortgeschrittener Nekrose des subkutanen Fettgewebes kann es zu einer Hypokalzämie kommen (Sudarsky et al., 1987). Des weiteren können eine Azidose (Elliott et al., 1996; Sudarsky et al., 1987) und eine Anämie beobachtet werden (Elliott et al., 1996; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Diese Laborveränderungen lassen sich nicht bei allen Patienten finden, sind aber beim Vorliegen durchaus unterstützend bei der Diagnosefindung.

Eine frühzeitige Stellung der Diagnose ist von größter Bedeutung, da wie oben beschrieben, die NF unbehandelt rapide fortschreitet. Im Anfangsstadium ist die frühe klinische Unterscheidung zwischen Zellulitis und NF schwierig, da die initialen Zeichen wie Ödem, Erythem und Schmerz keine sichere Differenzierung zulassen. Ein Versuch zur Diagnosesicherung besteht darin, eine tiefe Inzisionsbiopsie bis hin zur Faszie vorzunehmen. Bei NF blutet die Wunde typischerweise nicht. Das Anlegen einer Bakterienkultur und einer Gram-Färbung erlauben den Nachweis von spezifischen Erregern (Majeski and Majeski, 1997).

Bei den bildgebenden Verfahren ist die Magnetresonanztomographie der Sonographie, sowie dem konventionellen Röntgenbild in der frühen Differenzierung zwischen NF und Zellulitis überlegen (Brothers et al., 1998; Drake et al., 1998).

### 1.2.5 Therapie

Die Therapie der NF besteht in der frühen Einleitung aggressiver chirurgischer Maßnahmen zur Sanierung des betroffenen Gewebes mit wiederholten Debridements und intravenöser Gabe von Breitspektrum-Antibiotika (Childers et al., 2002). Wenn nötig, müssen eine hämodynamische Stabilisierung und ein Ernährungskonzept unter intensivmedizinischer Betreuung erfolgen. Das Ausmaß an Eiweiß- und Flüssigkeitsverlust über die Wunde kann signifikant sein, durchaus vergleichbar mit großen Traumata oder Verbrennungen. Dem sollte daher immer durch entsprechende enterale und wenn nicht anders möglich durch parenterale Ernährungskonzepte Rechnung getragen werden (Majeski und Majeski, 1997). Die Behandlung der NF kann durch hyperbare Sauerstofftherapie ergänzt werden, doch wird der Einsatz kontrovers diskutiert, und es sollte immer ein operatives Vorgehen Vorrang haben (Elliott et al., 1996; Pessa und Howard, 1985; Riseman et al., 1990).

### **1.3 Zytokine als klinische Verlaufparameter**

In einer Vielzahl von Studien wurde der Stellenwert verschiedener Blutparameter für die Frühdiagnostik schwerer Infektionen untersucht. Neben dem „klassischen“ Entzündungsparameter CRP wurden vor allem Zytokine oder Zytokinantagonisten, wie lösliche Rezeptoren bestimmt. Zu Zytokinen werden eine Anzahl von kleinen, körpereigenen Proteinen und Glykoproteinen gezählt, die von Lymphozyten und anderen Zellen produziert werden. Diese Moleküle sind chemische Mediatoren zur Signalvermittlung zwischen Zellen und beeinflussen Zellwachstum, Zelldifferenzierung und Zellalterung (Dinarello und Moldawer, 2002). Des Weiteren steuern Zytokine Gewebsreparaturen sowie Gewebsumbildungen und spielen vor allem eine Rolle in der Regulation der Immunantwort (Dinarello und Moldawer, 2002). Bei akuten und chronischen Entzündungsvorgängen regulieren Zytokine das Ausmaß und die Dauer der Entzündungsantwort und stellen somit therapeutische Angriffspunkte in der modernen Therapie krankhafter Prozesse dar (Dinarello und Moldawer, 2002). Im Folgenden werden die Zytokine charakterisiert, die in der vorliegenden Studie im Serum von Patienten mit NF gemessen wurden.

### 1.3.1 Interleukin -1 $\beta$

IL-1 $\beta$  wurde initial als endogene, fieberinduzierende Substanz beschrieben (Dinarello und Wolff, 1977; Murphy et al., 1974). Daneben wurden bis zur Einführung der endgültigen Nomenklatur unter anderem Begriffe wie endogener Lymphozytenmediator (Merriman et al., 1977) oder „mononuclear cell factor“ (Dayer et al., 1977) verwendet. IL-1 $\beta$  wird ohne Signalpeptid in inaktiver Form synthetisiert (Auron et al., 1984). Erst nach Abspaltung eines N-terminalen Peptides durch eine hochspezifische Protease („IL-1 $\beta$ -converting enzyme“) entsteht innerhalb der Zelle das reife, aktive Zytokin, das sezerniert wird (Black et al., 1988). Auch andere Proteasen können IL-1 $\beta$  intra- oder extrazellulär aktivieren (Coeshott et al., 1999; Fantuzzi et al., 1997). IL-1 $\beta$  zählt zu den entzündungsauslösenden (proinflammatorischen) Zytokinen und wird hauptsächlich von den Blut-Monozyten und Gewebs-Makrophagen exprimiert. Beim gesunden Menschen lassen sich im Blut nur niedrige Spiegel von IL-1 $\beta$  von weniger als 10 pg/ml nachweisen (Mileno et al., 1995; Puren et al., 1999; Shapiro und Dinarello, 1997). Nach Gabe von Lipopolysaccharid (LPS) steigen die Serumkonzentrationen von IL-1 $\beta$  innerhalb von drei bis sechs Stunden an und kehren dann wieder zur Ausgangskonzentration zurück (Cannon et al., 1990). Die bei Entzündungsprozessen im Menschen zu messenden systemischen IL-1 $\beta$ -Konzentrationen sind relativ niedrig (Casey et al., 1993), korrelieren aber mit dem Ausmaß der Erkrankung (Casey et al., 1993; Dinarello und Cannon, 1993).

### 1.3.2 Interleukin-1-Rezeptorantagonist

Balavoine und Mitarbeiter beschrieben als erste Arbeitsgruppe eine IL-1 inhibitorische Aktivität im Urin von Patienten mit Fieber (Balavoine et al., 1986). Seckinger und Mitarbeiter zeigten im Anschluss, dass der IL-1-Inhibitor im Urin die Bindung von IL-1 an den Rezeptor hemmte (Seckinger et al., 1987). Dieser IL-1-Inhibitor wurde aufgereinigt und die Aminosäuresequenz wurde benutzt, um die korrespondierende komplementäre Desoxyribonukleinsäure (cDNA) aus einer Monozyten-cDNA-Bibliothek zu klonieren (Eisenberg et al., 1990). Der IL-1-Inhibitor wurde umbenannt in IL-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1Ra). Bis heute wurden drei Formen des IL-1Ra beschrieben. Zwei Formen werden als intrazelluläre Proteine exprimiert, die dritte Form

wird sezerniert. IL-1Ra bindet kompetitiv zu IL-1 an den IL-1-Rezeptor und hat keine agonistische Aktivität. In gesunden Probanden sind die IL-1Ra-Serumspiegel mit 400-800 pg/ml relativ niedrig. Erhöhte IL-1Ra-Serumspiegel können bei einer Reihe von Krankheitsbildern wie Sepsis, Autoimmunerkrankungen wie rheumatoider Arthritis oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und auch bösartigen Tumorerkrankungen nachgewiesen werden (Dinarello, 1996). In Therapiestudien bei Sepsis konnten mit IL-1Ra bis heute keine eindeutig positiven Ergebnisse erzielt werden (Arend et al., 1998). Hingegen ist IL-1Ra wirksam bei der Therapie der rheumatoiden Arthritis (Bresnihan et al., 1998) und wurde vor knapp zwei Jahren als Anakira unter dem Handelsnamen Kinaret® von der amerikanischen Arzneimittelbehörde (FDA) zur klinischen Anwendung zugelassen.

### 1.3.3 Interleukin-18

IL-18 wurde 1989 als Interferon- $\gamma$  (IFN $\gamma$ )-stimulierender Faktor beschrieben (Nakamura et al., 1989) und gehört wie IL-1 $\beta$  und IL-1Ra zu den Zytokinen der IL-1-Familie. Wie IL-1 $\beta$ , wird IL-18 als inaktives Vorläufermolekül synthetisiert und hat eine N-terminale Prosequenz von 25 Aminosäuren (Okamura et al., 1995b). Auch IL-18 wird vom "IL-1 $\beta$ -converting enzyme" in seine aktive Form überführt (Ghayur et al., 1997; Gu et al., 1997). Im Gegensatz zu IL-1 $\beta$  wird IL-18 konstitutiv in humanen Blutmonozyten (Puren et al., 1999), dendritischen Zellen und Epithelzellen exprimiert (Gardella et al., 1999). Ein natürlicher Hemmstoff von IL-18 ist das IL-18-Bindungsprotein (Novick et al., 1999). Die herausragende Eigenschaft von IL-18 ist ein Synergismus mit IL-12 bezüglich der IFN $\gamma$ -Produktion. Somit gehört IL-18 zur Familie der proinflammatorischen Zytokine, welche eine T-Helfer-Zell-Typ 1 (Th1)-dominierte Immunantwort auslösen (Okamura et al., 1995a). Überraschenderweise wurde kürzlich gezeigt, dass IL-18 in Abwesenheit von IL-12 auch eine allergische, T-Helfer-Zell-Typ 2 (Th2)-gewichtete Immunantwort stimulieren kann (Hoshino et al., 1999; Sharma et al., 2002). Erhöhte Serumspiegel von IL-18 wurden bei Sepsis beschrieben (Okamura et al., 1995a). IL-18 spielt eine wichtige Rolle bei Autoimmunerkrankungen wie rheumatoider Arthritis (Joosten et al., 2000). Darüber hinaus deuten experimentelle Daten darauf hin, dass IL-18 auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eine wichtige Rolle einnimmt (Siegmond, 2002).

#### 1.3.4 Interleukin-6

IL-6 ist ein *pleiotropes* Zytokin, das von verschiedensten Zelltypen produziert wird und eine wichtige Rolle bei der B-Zelldifferenzierung und Regulation der angeborenen Immunantwort sowie der Hämatopoese spielt (Hirano, 1998). Menschliches IL-6 ist ein Protein bestehend aus 186 Aminosäuren. Monozyten exprimieren wenigstens fünf Isoformen von IL-6, die sich im Glykosylierungs- oder Phosphorylierungsmuster unterscheiden (Hirano et al., 1986). Erhöhte IL-6 Plasmakonzentrationen wurden bei schweren Infektionen wie Sepsis und „*systemic inflammatory response syndrome*“ gefunden und haben einen negativ prognostischen Aussagewert für den Verlauf der Erkrankung (Casey et al., 1993; Engel et al., 1998; Hynninen et al., 1995; Steinmetz et al., 1995).

#### 1.3.5 Interleukin-8

IL-8 wurde in den frühen 80er Jahren von Matsushima und Kollegen entdeckt (Matsushima et al., 1988). Sie fanden, dass in nur teilweise gereinigtem IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  eine chemotaktische Aktivität für Neutrophile nachweisbar war. Der Faktor mit dieser Aktivität wurde anschließend aufgereinigt (Yoshimura et al., 1987) und kloniert (Matsushima et al., 1988). Monozyten abgeleiteter chemotaktischer Faktor für Neutrophile war der ursprüngliche Name für IL-8. Später wurde herausgefunden, dass IL-8 auch andere Zellen als Angriffspunkte hat, wie z. B. T-Lymphozyten (Larsen et al., 1989). Die Hauptfunktion von IL-8 ist die chemotaktische Aktivität für Neutrophile. Darüberhinaus induziert IL-8 das Gefäßwachstum und hemmt die Proliferation von myeloischen Stammzellen (Iizasa und Matsushima, 2001). Bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen konnten in Körperflüssigkeiten und entzündetem Gewebe erhöhte IL-8-Spiegel gemessen werden, so z. B. in Hautläsionen bei Psoriasis (Schroder und Christophers, 1986) oder in Synovialflüssigkeit bei rheumatoider Arthritis (Brennan et al., 1990). Erhöhte IL-8-Serumspiegel werden außerdem bei Patienten mit systemischen Infektion wie Sepsis gefunden und korrelieren mit dem Schweregrad der Erkrankung (Lin et al., 2000).

### 1.3.6 Interferon- $\gamma$

Erste Hinweise auf IFN $\gamma$  wurden im Jahr 1965 von Wheelock publiziert, der im Überstand mitogen stimulierter mononukleärer Zellen eine säureinstabile Substanz mit antiviraler Aktivität entdeckte (Wheelock, 1965). Schon Gresser und Nacify beschrieben ein säureinstabiles IFN in zerebrospinaler Flüssigkeit von Patienten mit infektiösen und nicht infektiösen neurologischen Erkrankungen (Gresser und Nasify, 1964). In den frühen siebziger Jahren wurden dann die Begriffe wie Typ II-Interferon (Youngner und Salvin, 1973) und Immun-Interferon (Falcoff, 1972) eingeführt. Im Jahr 1980 wurde Typ I-Interferon entsprechend der Internationalen Interferon Nomenklatur in IFN $\alpha$  und IFN $\beta$  und Immun-Interferon in IFN $\gamma$  umbenannt (Stewart, 1980). IFN $\gamma$  wird hauptsächlich von Lymphozyten, T-Zellen und natürlichen Killerzellen gebildet. Rezeptoren für IFN $\gamma$  findet man auf allen Zellen, sodass physiologische Prozesse in bestimmter Weise von IFN $\gamma$  beeinflusst werden können. IFN $\gamma$  ist ein pro-inflammatorisches Zytokin und induziert eine Th-1 gewichtete Immunantwort vor allem zur Abwehr intrazellulärer Krankheitserreger. Die physiologischen Serumkonzentrationen sind sehr gering. Unter pathologischen Umständen, wie z. B. bei Trauma, Infektionen, bösartigen Erkrankungen oder Autoimmunerkrankungen können erhöhte Serumkonzentrationen von IFN $\gamma$  gemessen werden (Billiau und Vandebroek, 2001).

## **1.4 Grundlage der vorliegenden Studie**

Norrby-Teglund und Mitarbeiter zeigten für die durch Gruppe A Streptokokken ausgelösten Infektionen einschließlich NF einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der lokalen und systemischen Ausschüttung bestimmter Zytokine sowie der Ausprägung des Krankheitsbildes (Norrby-Teglund et al., 2000; Norrby-Teglund et al., 2001). Es wurden bisher jedoch keine Studien publiziert, in welchen die Zytokinantwort als Parameter zur Frühdiagnostik und Prognose bei Patienten mit NF untersucht wurde. Dies ist die Grundlage der vorliegenden Arbeit, für die im Rahmen einer prospektiven klinischen Studie über maximal 36 Stunden nach Klinikaufnahme das Zytokinprofil von Patienten mit Verdacht auf NF bestimmt wurde.



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Studienprotokoll

Die Studie wurde von dem Ethikkomitee des Highland General Hospital genehmigt. Für die Studie wurden Patienten des Highland General Hospital in Oakland, Kalifornien, USA, über die Notaufnahme im Zeitraum von Juli 2000 bis Oktober 2001 rekrutiert. Einschlusskriterium war ein klinisches Bild, vereinbar mit dem Verdacht auf NF oder Zellulitis. Es wurden 20 Patienten mit Verdacht auf NF oder Zellulitis aufgenommen, weitere fünf Patienten mit Verdacht auf Myokardinfarkt dienten als Kontrollgruppe. Die Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Alle Diagnosen wurden retrospektiv bestätigt. Die Diagnose NF wurde im Verlauf der Erkrankung durch Gewebeproben histologisch gesichert, welche während der chirurgischen Intervention entnommen wurden. Nach Aufnahme in die Notaufnahme des Highland General Hospital wurde nach Diagnosestellung im Rahmen der Primärblutentnahme neben dem Routinelabor (kleines Blutbild, Serumchemie, Gerinnungsparameter) ein zusätzliches Serumröhrchen (10 ml) zur Zytokinbestimmung abgenommen. Weitere Serumproben zur Zytokinbestimmung wurden im Verlauf nach sechs, zwölf und achtzehn Stunden gewonnen.

### 2.2 Patienten

Insgesamt wurden 25 Patienten in die Studie eingeschlossen. Fünfzehn Patienten wurden mit NF diagnostiziert, fünf von diesen verstarben (NF/D). Jeweils fünf weitere Patienten wurden mit Zellulitis oder Myokardinfarkt diagnostiziert. In der Gruppe der Patienten mit NF/D waren vier Patienten männlich, einer weiblich. Die Altersspanne reichte von 26–59 Jahre. Ein Patient war südamerikanischer Abstammung, einer kaukasischer und drei weitere waren afro-amerikanischer Herkunft. Alle Patienten waren intravenös (i. v.) drogenabhängig, keiner war mit dem „*human immunodeficiency virus*“ (HIV) infiziert. Von den zehn überlebenden Patienten mit NF (NF/S) waren acht männlich und zwei weiblich, das Alter lag zwischen 32 und 57 Jahren. Zwei Patienten

waren südamerikanischer Abstammung, zwei kaukasischer und sechs weitere Patienten waren afro-amerikanischer Herkunft. Von den fünf an Zellulitis erkrankten Patienten waren vier männlich und eine weiblich, die Altersspanne reichte von 45–60 Jahren. Drei Patienten waren kaukasischer und zwei afro-amerikanischer Herkunft. Vier Patienten waren i. v. drogenabhängig, einer mit HIV infiziert. In der Kontrollgruppe mit Myokardinfarkt waren drei Männer und zwei Frauen im Alter von 45–63 Jahren. Zwei der Kontrollpatienten waren kaukasischer und drei afro-amerikanischer Abstammung. Keiner der Patienten war drogenabhängig oder HIV infiziert (siehe Tabelle 1).

**Tabelle 1.** Charakteristika der Studienpatienten

	<b>NF/D</b> (n=5)	<b>NF/S</b> (n=10)	<b>Zellulitis</b> (n=5)	<b>MI</b> (n=5)
Alter/Median*	51	47	48	54
(Bereich)	(26-59)	(32-57)	(45-60)	(45-63)
Geschlecht*	4:1	8:2	4:1	3:2
(männlich:weiblich)				
i. v. Drogenabusus	5/5	9/10	4/5	0/5
HIV-positiv	0/5	0/10	1/5	0/5

\* Keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Patientengruppen, berechnet mit Mann-Whitney-Test für nicht parametrische Variablen. Die Unterschiede der Gruppen bezüglich i. v.-Drogenabhängigkeit und HIV-Status wurden nicht statistisch erfasst. MI entspricht Myokardinfarkt.

### 2.3 Serumproben

Zur Gewinnung der Serumproben zur Zytokinbestimmung wurden Entnahmeröhrchen der Firma Becton Dickinson verwendet (5 ml Vacutainer<sup>®</sup>, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA). Die Abnahmeröhrchen wurden nach Gerinnung der Blutprobe im Routinelabor der Klinik bei 500 g für 5 min abzentrifugiert. Das Serum im Überstand nach Zentrifugation wurde abpipettiert und bis zur Analyse der Zytokinspiegel bei –70 °C gelagert.

## 2.4 Reagenzien und Antikörper

Die Reagenzien dieser Studie stammen, soweit nicht anders angegeben, von Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, MO, USA) und Igen International Inc. (Gaithersburg, MD, USA). Die in Tabelle 2 aufgelisteten Antikörper wurden zur Zytokinbestimmung verwendet. Sämtliche Antikörper wurden in Phosphat gepufferter Salzlösung (PBS) in einer Konzentration von 1 mg/ml gelöst. Die Antikörper wurden mit Biotin bzw. Ruthenium (TAG) für die Elektrochemilumineszenzmethode zur Zytokinbestimmung markiert. Zu je 500 µl der entsprechenden Antikörper, gelöst in PBS, wurden entweder 12 µl *N*-Hydroxysuccinimideester von Biotin (2 mg/ml in H<sub>2</sub>O, Igen International Inc., Gaithersburg, MD, USA) oder 14,1 µl *N*-Hydroxysuccinimideester von Ruthenium (II) Tris-Bipyridin Chelat (TAG-NHS Ester) (1,5 mg/ml in DMSO, Igen International Inc., Gaithersburg, MD, USA) pipettiert und für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Die Kopplungsreaktion wurde anschließend durch Zugabe von 20 µl 2 molarer (M) Glyzinlösung in H<sub>2</sub>O gestoppt. Über Gelfiltration (NAP25 Gelfiltrationsäule, Amersham-Pharmacia Biotech, Uppsala, Schweden) wurde das ungebundene Biotin beziehungsweise Ruthenium von den markierten Antikörpern getrennt. Die Antikörper

**Tabelle 2.** Zur Zytokinbestimmung verwendete Antikörper

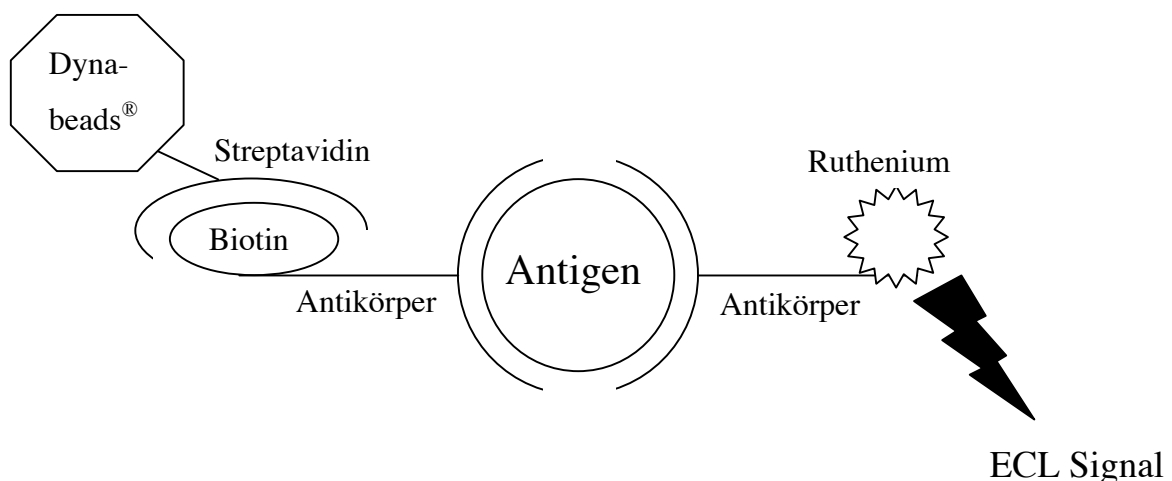
ECL-Assay	Typ	Markierung	Hersteller/ Bezeichnung
hIL-1β	polyklonal Ziege	Biotinyliert	R&D BAF201
	monoklonal Maus	TAG	R&D MAB201
hIL-1Ra	polyklonal Kaninchen	Biotinyliert	Beide eigene Labor-
	polyklonal Kaninchen	TAG	herstellung (F18)
hIL-18	polyklonal Ziege	Biotinyliert	R&D BAF318
	monoklonal Maus	TAG	R&D MAB318
hIL-6	polyklonal Ziege	Biotinyliert	R&D BAF206
	monoklonal Maus	TAG	R&D MAB206
hIL-8	polyklonal Ziege	Biotinyliert	R&D BAF208
	polyklonal Ziege	TAG	R&D AF208-NA
hIFNγ	monoklonal Maus	Biotinyliert	Fitzgerald10-I61
	monoklonal Maus	TAG	R&D MAB285

wurden in PBS/NaN<sub>3</sub> 0,02% bei 4 °C gelagert. Die Endkonzentration der Antikörper nach Markierung mit Biotin oder Ruthenium betrug 500 µg/ml.

## 2.5 Messung der Zytokine

Alle Zytokine wurden mit der Elektrochemilumineszenzmethode gemessen, die 1995 von Deaver und Mitarbeiter beschrieben wurde (Deaver, 1995). Ähnlich wie beim klassischen Enzym-gekoppelten Immunoassay (ELISA) besteht das Prinzip dieser Methode darin, dass ein definiertes Molekül (Antigen) von zwei Antikörpern gebunden wird und damit hochspezifisch nachgewiesen werden kann. Im Prinzip werden dazu folgende Komponenten benötigt (siehe Abbildung 1):

1. Ein Antigen-spezifischer Antikörper, der mit einer Molekülverbindung markiert ist, welche Chemilumineszenz erzeugt (Ruthenium)
2. Ein zweiter Antigen-spezifischer Antikörper, der über Biotinmarkierung spezifisch an Streptavidin-gekoppelte magnetische Partikel bindet
3. Ein Puffer, der Tripopylamin (TPA) zur Generierung der Chemilumineszenz enthält
4. Ein Analysegerät zur Messung der Elektrochemilumineszenz



**Abbildung 1.** Prinzip der Elektrochemilumineszenzmethode zur Zytokinbestimmung.

Die markierten Antikörper und die magnetischen Dynabeads® (Igen International Inc.) werden nach unten beschriebenem Protokoll auf einem Schüttler für zwei bis zwölf

Stunden inkubiert. Nach Abschluss der Bindungsreaktion werden die Komplexe bestehend aus Antigen, Antikörper und Dynabeads® an den Magneten in der Messzelle des Analysegeräts gebunden und gewaschen. Durch eine in räumlicher Nähe zum Magneten platzierte Elektrode wird das an den Detektionsantikörper gebundene TAG oxidiert. Das spontan reduzierte TPA im Messpuffer reagiert nun mit dem oxidierten Ruthenium und führt zur Emission eines Photons der Wellenlänge  $\lambda = 620$  nm. Das emittierte Licht wird über eine Photozelle registriert. Der Vorteil dieser Methode besteht in einer hohen Sensitivität und einem im Vergleich zum klassischen ELISA größeren dynamischen Messbereich (siehe Tabelle 3).

Vor Beginn der Zytokinbestimmung wurden die Serumproben langsam auf Eis aufgetaut, um proteolytischer Degradierung vorzubeugen. Zur Entfernung unlöslicher Bestandteile nach dem Auftauen wurden die Proben bei 2000 g für 15 min. abzentrifugiert (Eppendorf Zentrifuge 5810 R, Eppendorf, Hamburg) und anschließend im Verhältnis 1:1 mit dem ECL-Matrixpuffer (PBS, 0,25% Rinderserumalbumin (BSA), 0,5% Tween 20, 0,02%  $\text{NaN}_3$ ) verdünnt. Die Verdünnung der Proben wurde vorgenommen, um das unspezifische Messsignal zu reduzieren. Je 25  $\mu\text{l}$  der verdünnten Serumproben wurden in ein Reaktionsröhrchen (5 ml, Polypropylen, Falcon®, Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ, USA) vorgelegt. Entsprechend Tabelle 3 wurden die Zytokinstandards in humanem Normalserum (1:1 verdünnt in ECL-Matrixpuffer) verdünnt und ebenfalls in Reaktionsröhrchen pipettiert. Anschliessend wurde die

**Tabelle 3.** Verdünnung der im ECL verwendeten Antikörperlösungen, Inkubationszeiten und Messbereich für die angegebenen Zytokine.

Zytokin	Biotinylierter Antikörper	TAG-markierter Antikörper	Standardverdünnung	Inkubationszeit	Messbereich
	<i>(Verdünnung)</i>				<i>(pg/ml)</i>
IL-1 $\beta$	1:500	1:500	1:5	2 h	2000-3,2
IL-1Ra	1:500	1:500	1:5	12 h	25000-40
IL-6	1:500	1:500	1:5	2 h	25000-40
IL-8	1:250	1:500	1:5	2 h	5000-8
IL-18	1:700	1:700	1:5	12 h	10000-16
IFN $\gamma$	1:250	1:500	1:3	2 h	1000-123

erforderliche Menge der Biotin- und TAG-markierten Antikörper (25 µl pro Reaktionsansatz) und die Streptavidin-markierten magnetischen Partikel (25 µl pro Reaktionsansatz, 1 mg/ml, Dynabeads® M-280 Streptavidin, Igen International Inc., Gaithersburg, MD, USA) in ECL-Matrixpuffer verdünnt (siehe Tabelle 3).

Die biotinylierten Antikörper und die Dynabeads® wurden für 20 min auf einem Schüttler bei Raumtemperatur vorinkubiert (Titer Plate Shaker, Labline Instruments Inc., Melrose Park, Illinois, USA). Während dieser Vorinkubationsphase binden die Antikörper über das markierte Biotin an den Streptavidinanteil der Dynabeads® (siehe Abbildung 1). Anschließend wurden je 50 µl der vorinkubierten biotinylierten Antikörper und Dynabeads® sowie 25 µl der verdünnten TAG-markierten Antikörper zu den Proben und Standards pipettiert. Die Reaktionsansätze wurden für die in Tabelle 3 angegebenen Zeiten auf einem Schüttler inkubiert. Abschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 200 µl PBS gestoppt. Die Proben wurden in einem Analysegerät der Firma Igen International Inc. (Origen 1.5 Analyzer) gemessen und entsprechend dem Standard ausgewertet.

## 2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm Statview™ 512+ (Brain Power Inc., Calabasas, CA, USA) auf einem Apple-Macintosh Computer (iMac®, Apple Macintosh, CA, USA) durchgeführt. Für die Erstellung der Graphiken fanden die Programme der Firma Microsoft Excel® und Powerpoint® Verwendung. Zur Auswahl der statistischen Testverfahren wurden die zu vergleichenden Variablen (Patientenalter, klinische Parameter, Leukozyten, Zytokine) zunächst auf Normalverteilung mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Die Nullhypothese (die Häufigkeitsverteilung der Variablen und die Normalverteilung sind verschieden) wurde bei  $p < 0.05$  abgelehnt. Da diese Prüfung nicht für alle Parameter eine Normalverteilung erbrachte, kamen zur weiteren Auswertung der Daten nicht-parametrische Verfahren zur Anwendung. Vergleiche zwischen verschiedenen Patientengruppen wurden mit dem Mann-Whitney *U*-Test erstellt. Die Korrelation zwischen verschiedenen Parametern wurde mit

dem Spearman-Korrelationstest berechnet und der Zeitverlauf der Serumzytokinspiegel nach dem Wilcoxon-Test. Ein  $p$ -Wert von  $<0.05$  wurde als signifikant interpretiert.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Klinische Charakteristika der Patientengruppen

Wie bereits in dem Abschnitt Material und Methoden beschrieben, bestanden keine signifikanten Unterschiede im Alter und Geschlecht der Patientengruppen (Tabelle 1). Die bevorzugte Lokalisation der NF waren die Extremitäten (67%), in 20% war die Schulter und in 13% die Hüfte betroffen (Tabelle 4). Oft beobachtet man eine Gasbildung im betroffenen Weichteilgewebe (Cunningham et al., 2001; McHenry et al., 1995) und so ließ sich in zwei von fünf Fällen mit letal ausgehender NF/D Gasbildung im Röntgenbild nachweisen. Bei den NF/S sahen wir in drei Fällen Gasbildung, vier Fälle waren negativ und in zwei Fällen wurde keine Röntgenaufnahme durchgeführt (Tabelle 4).

**Tabelle 4.** Lokalisation der nekrotisierenden Fasziiitis, Gasbildung im Röntgenbild

	Patient	Lokalisation	Gasbildung im Röntgen
NF/D	1	beide Oberschenkel	negativ
	4	Arm und Bein, rechts	positiv
	8	Schulter, links	negativ
	15	Hüfte, rechts	positiv
	16	Arm und Bein, rechts	negativ
NF/S	2	Oberschenkel und Wade, links	negativ
	5	Deltoidmuskel, links	positiv
	10	Arm, rechts	positiv
	11	Oberschenkel, links	negativ
	12	Schulter, rechts	negativ
	13	Bein, links	positiv
	14	beide Arme,	negativ
	17	Hüfte, rechts	nicht bestimmt
	18	Unterarm, rechts	negativ
	20	Oberschenkel, links	nicht bestimmt



In verschiedenen Studien wurde gezeigt, dass das diagnostische Vorgehen und der Zeitverlauf des Klinikaufenthaltes im Zusammenhang mit einer erhöhten Sterblichkeit stehen (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; McHenry et al., 1995). So bestimmten wir bei unserem Patientengut mit NF das Zeitintervall zwischen Aufnahme der Patienten und dem ersten operativen Eingriff, sowie die Anzahl der vorgenommenen Debridements. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den überlebenden Patienten mit NF und den Verstorbenen bezüglich des Zeitintervalls zum ersten operativen Eingriff und der Anzahl der Debridements (Tabelle 5).

**Tabelle 5.** Klinische Verlaufsdaten der Studienpatienten

	NF/D	NF/S
	<i>MW±SEM</i>	
Zeitintervall bis zum erstem operativen Eingriff (h)*	8,5±2,9	12,6±5,2
Anzahl der Debridements*	2±0,7	1,4±0,2

\* Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Verschiedenen Patientengruppen, berechnet mit Mann-Whitney Test für nicht parametrische Variablen.

Um eine Aussage über den klinischen Zustand der Patienten treffen zu können wurden verschiedene Vitalparameter und laborchemische Parameter bestimmt (Tabelle 6). Die Patienten mit NF, sowohl die Verstorbenen, wie auch die Überlebenden zeigten normale oder leicht erhöhte Temperaturen, aber kein Fieber. Die Patienten mit Zellulitis hatten im Durchschnitt eine Körpertemperatur um 38°C. Alle Patienten waren blutdruckstabil. Für Körpertemperatur und Blutdruck ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Patientengruppen. Für Kreatinin, als Parameter der Nierenfunktion, bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Für die Thrombozyten wurden signifikant niedrigere Werte in der Gruppe der verstorbenen Patienten gegenüber den Überlebenden mit NF beobachtet (Tabelle 6). Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen laborchemischen Daten und Vitalparameter beziehen sich fast ausschließlich auf den Zeitpunkt der Aufnahme. Zu den späteren Abnahmezeitpunkten sind die Bestimmungen der einzelnen laborchemischen Parameter so lückenhaft erfolgt, dass es nicht sinnvoll erschien, diese statistisch auszuwerten.

**Tabelle 6.** Ausgewählte klinische und laborchemische Parameter der Studienpatienten

Parameter	NF/D	NF/S	Zellulitis	MI
	<i>MW±SEM</i>			
Körpertemperatur (°C) <sup>a</sup>	36.6±1.3	37.5±1.1	38.3±1.3	36.7±0.5
Blutdruck (MAP/mmHg) <sup>a</sup>	79±14	88±14	81±0	92±18
Leukozyten (x10 <sup>3</sup> /µl) <sup>b</sup>	57±16	16±2	13±3	9±1
Thrombozyten (x10 <sup>3</sup> /µl) <sup>c</sup>	165±53	358±64	239±80	274±41
Kreatinin (mg/ml) <sup>a</sup>	1.05±0.16	1.81±0.97	0.93±0.14	0.84±0.12

<sup>a</sup> Keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Patientengruppen, berechnet mit Mann-Whitney Test für nicht parametrische Variablen. MI entspricht Myokardinfarkt.

<sup>b</sup> Signifikanz siehe Abbildung 4. <sup>c</sup> NF/D versus NF/S  $p=0,014$ .

### 3.2 Bakteriologische Ergebnisse

Dreizehn der vierzehn Patienten mit NF und positiver Bakterienkultur wiesen eine gemischte Flora, mit überwiegend Gram-positiven Keimen auf. Bei vier von fünf Patienten mit letalem Ausgang wurde *Staph. aureus* nachgewiesen. In einem Fall kombiniert mit  $\beta$ -hämolisierenden Streptokokken der Gruppe A, in einem weiteren Fall mit *Clostridium sardelli*. Von einem Patienten konnte eine Mischflora von *Clostridium baratii* und *Corynebacterium spezies* isoliert werden. Monobakterielle Kultur mit entweder  $\beta$ -hämolisierenden *Streptokokken* der Gruppe A oder Mezlocillin-resistenten *Staph. aureus* wurde von zwei Patienten mit nicht letalem Ausgang der Fasziiitis isoliert. Alle anderen Patienten dieser Gruppe wiesen mehr als eine Bakterienspezies auf, einschließlich *Staph. aureus* (zwei Patienten), verschiedener *Streptokokken* Spezies (fünf Patienten), *Pseudomonas stutzeri* (ein Patient) oder eine gemischte Haut- oder atemwegstypische Flora (zwei Patienten). Bei einem Patienten ließ sich *Clostridium perfringens* kombiniert mit *Streptokokken* nachweisen. In einem Fall mit NF/S war die bakteriologische Diagnostik negativ.

Positive Blutkulturen fanden sich bei vier von fünf Patienten mit NF/D. Bei zwei von den zehn überlebenden Patienten mit NF wurden keine Blutkulturen bestimmt, drei waren negativ und fünf positiv (siehe Tabelle 7).

**Tabelle 7.** Bakteriologische Ergebnisse

	<b>Patient</b>	<b>Bakteriologie</b>	<b>Blutkultur</b>
<b>NF/D</b>	1	<i>Corynebacterium sp., Clostridium baratii</i>	positiv
	4	<i>Staph. aureus,</i> <i>Enterobacter cloacae/agglomerans</i>	positiv
	8	<i>Staph. aureus, Clostridium sordellii</i>	negativ
	15	<i>Enterococcus faecalis, Staph. aureus</i>	positiv
	16	<i>Staph. aureus, β-hämolysierende Strept. Gruppe A</i>	positiv
	<b>NF/S</b>	2	<i>Pseudomonas stutzeri, Staph. aureus</i>
5		gemischte Atemwegsflora	negativ
10		<i>Strept. bovis, Strept. agalactiae, Enterococcus faecalis, Clostridium perfringens und sardellii</i>	positiv
11		<i>Enterobacter cloacae, Strept. viridans</i>	positiv
12		Mezlocillin resistenter <i>Staph. aureus</i>	positiv
13		β-hämolys. <i>Strept. Gruppe A</i>	positiv
14		koagulase neg. <i>Staph.</i> , β-hämolys. <i>Strept. Gruppe B</i>	nicht bestimmt
17		<i>Strept. Gruppe F, Strept. viridans, Peptostreptococcus</i>	positiv
18		negativ	negativ
20		gemischte Hautflora	nicht bestimmt
<b>Zellulitis</b>	6	negativ	negativ
	9	negativ	negativ
	21	Mezlocillin resistenter <i>Staph. aureus, Enterococcus faecalis, Strept. viridans</i>	negativ
	22	β-hämolysierende <i>Strept. Gruppe B, Staph. aureus,</i> <i>koagulase neg. Staph.</i>	negativ
	23	<i>koagulase neg. Staph.</i>	negativ

Eine Mischkultur mit Mezlocillin-resistentem *Staph. aureus*, *Streptococcus viridans* und *Enterococcus faecalis* als gram-negativem Keim fand sich bei einem Patienten mit Zellulitis. Bei einem zweiten Patienten mit Zellulitis wurden β-hämolysierende *Streptokokken* der Gruppe B und *Staph. aureus* nachgewiesen, bei einem dritten Patienten nur koagulase-negative *Staphylokokken*. Bei zwei Patienten mit Zellulitis war

kein Erregernachweis möglich. Die Blutkulturen der Patienten mit Zellulitis waren alle negativ (Tabelle 7).

### 3.3 Serumzytokinspiegel bei Aufnahme

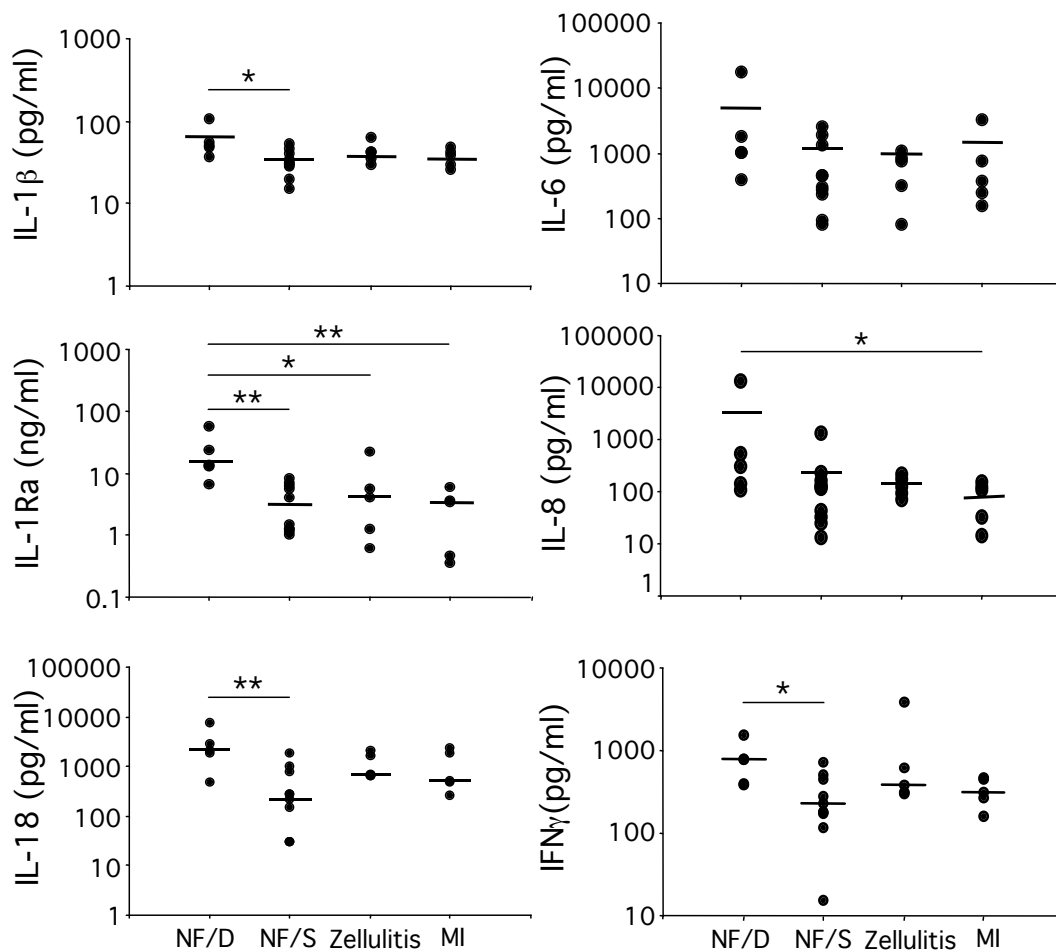
Mit der ersten Blutabnahme in der Notaufnahme erfolgte eine Bestimmung der Zytokinspiegel. Die Serumspiegel für IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18 und IFN $\gamma$  waren signifikant erhöht für Patienten mit NF/D, verglichen mit Patienten mit NF/S (Abbildung 2). Insbesondere war IL-1Ra in der Gruppe NF/D bei Aufnahme ebenso höher als in Patienten mit Zellulitis oder der Kontrollgruppe mit MI. Die Serumspiegel für IL-8 waren nur für NF/D, verglichen mit Myokardinfarkt signifikant erhöht. Ansonsten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für IL-8.

Interessanterweise war im Serum der Patienten mit NF/S keines der gemessenen Zytokine im Vergleich zu den Patienten mit Zellulitis oder Myokardinfarkt erhöht. Für IL-6 ergaben sich bei Aufnahme für keine Patientengruppe signifikante Unterschiede (Abbildung 2). Da in Abbildung 2 die Serumzytokinkonzentrationen bei Aufnahme mit logarithmischer Skala dargestellt wurden, sind zur Veranschaulichung der Absolutwerte in Tabelle 8 die Mittelwerte der Zytokinspiegel mit Standardabweichung zusammengefasst.

**Tabelle 8.** Mittelwerte und Standardfehler der Zytokine bei Aufnahme

	<b>IL-1<math>\beta</math></b> (pg/ml)	<b>IL-1Ra</b> (ng/ml)	<b>IL-18</b> (pg/ml)	<b>IL-6</b> (pg/ml)	<b>IL-8</b> (pg/ml)	<b>IFN<math>\gamma</math></b> (pg/ml)
	<i>MW<math>\pm</math>SEM</i>					
NF/D	60 $\pm$ 13	23 $\pm$ 9	2982 $\pm$ 1208	4373 $\pm$ 3320	2942 $\pm$ 2668	779 $\pm$ 210
NF	33 $\pm$ 4	4 $\pm$ 1	463 $\pm$ 185	772 $\pm$ 273	221 $\pm$ 125	286 $\pm$ 68
Zellulitis	43 $\pm$ 6	7 $\pm$ 4	1154 $\pm$ 300	610 $\pm$ 178	137 $\pm$ 27	1098 $\pm$ 694
MI <sup>a</sup>	37 $\pm$ 4	3 $\pm$ 1	1102 $\pm$ 428	951 $\pm$ 578	84 $\pm$ 26	333 $\pm$ 57

<sup>a</sup>MI entspricht Myokardinfarkt.

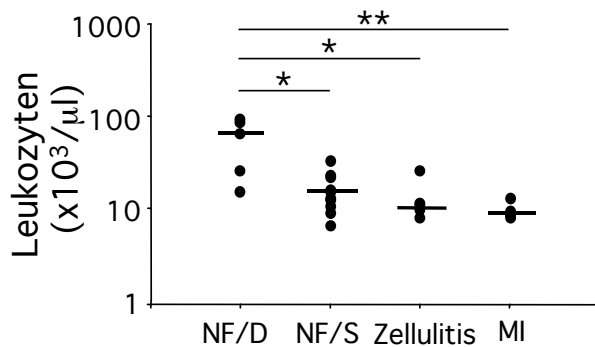


**Abbildung 2. Zytokinspiegel von IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18, IL-6, IL-8 und IFN $\gamma$  bei Aufnahme.** Die Serumproben von Patienten mit Verdacht auf NF, Zellulitis (n=5) oder MI (n=5) wurden bei Aufnahme in die Nothilfe gewonnen. Die Patienten mit NF wurden entsprechend des Krankheitsverlaufes retrospektiv in Verstorbene (NF/D, n=5) und Überlebende (NF/S, n=10) eingeteilt. Unterschiede zwischen den Zytokinspiegeln der vier verschiedenen Patientengruppen wurden mit dem Mann-Whitney-Test für nicht parametrische Variablen berechnet. Die horizontalen Balken geben den entsprechenden Median wieder. \* entspricht  $p < 0.05$ ; \*\* entspricht  $p < 0.01$ . MI entspricht Myokardinfarkt.

### 3.4 Leukozytenwerte bei Aufnahme

Im Rahmen der initialen Routineblutabnahme wurden von sämtlichen Studienpatienten die Leukozytenwerte als globaler Parameter der Entzündungsreaktion bestimmt. Bei Aufnahme waren die Leukozytenwerte der Patienten mit NF/D signifikant erhöht gegenüber allen anderen Patientengruppen. Am Ausgeprägtesten war der Unterschied zwischen den Patienten mit NF/D und Myokardinfarkt. Zwischen den

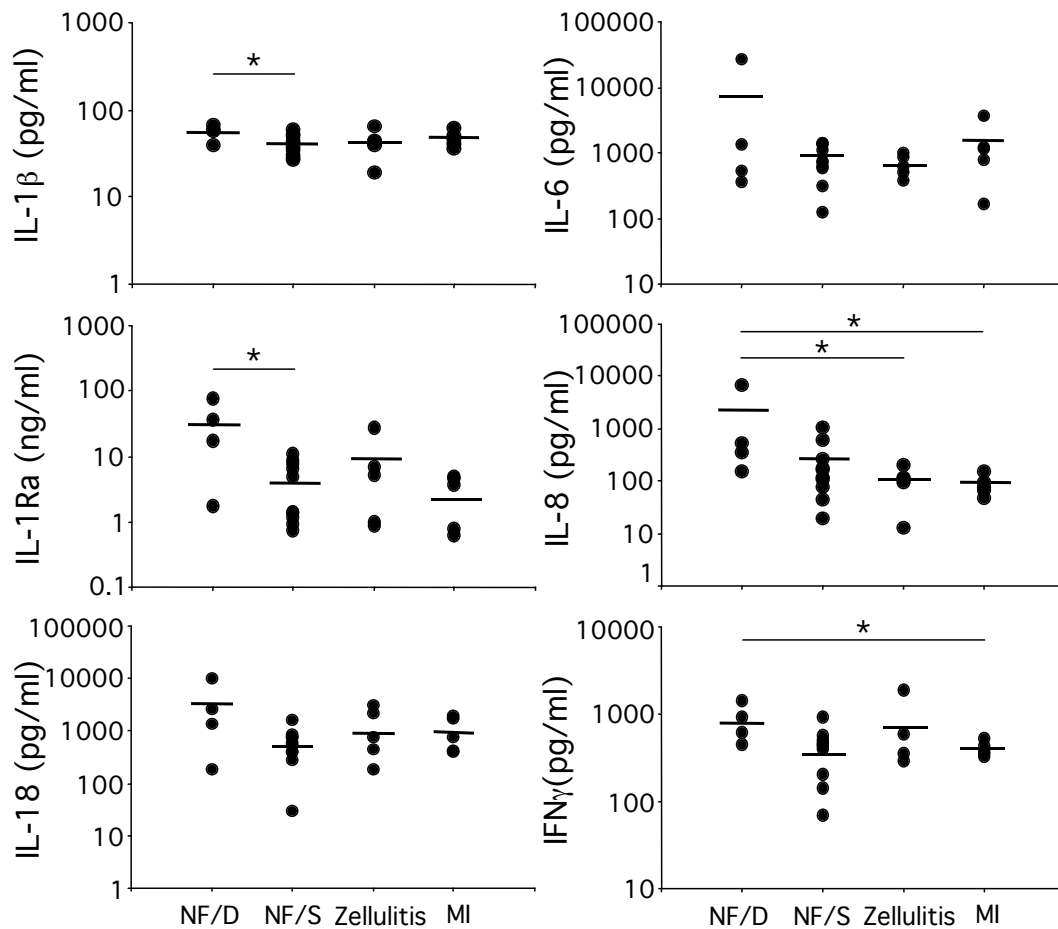
Leukozytenwerten der Patienten mit Zellulitis oder Myokardinfarkt ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Insbesondere zeigten sich auch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit NF/S und Zellulitis oder Myokardinfarkt (Abbildung 3).



**Abbildung 3.** Leukozytenwerte bei Aufnahme. Bei Aufnahme in die Nothilfe wurden im Rahmen der initialen Blutentnahme von sämtlichen Patienten die Leukozytenwerte bestimmt. Verstorbene (NF/D, n=5) und Überlebende (NF/S, n=10) Patienten mit NF, Patienten mit Zellulitis (n=5) oder MI (n=5). Unterschiede zwischen den Leukozytenwerten der vier Patientengruppen wurden mit dem Mann-Whitney-Test für nicht parametrische Variablen berechnet. Die horizontalen Balken geben den entsprechenden Median wieder. \* entspricht  $p < 0,05$ ; \*\* entspricht  $p < 0,01$ . MI entspricht Myokardinfarkt.

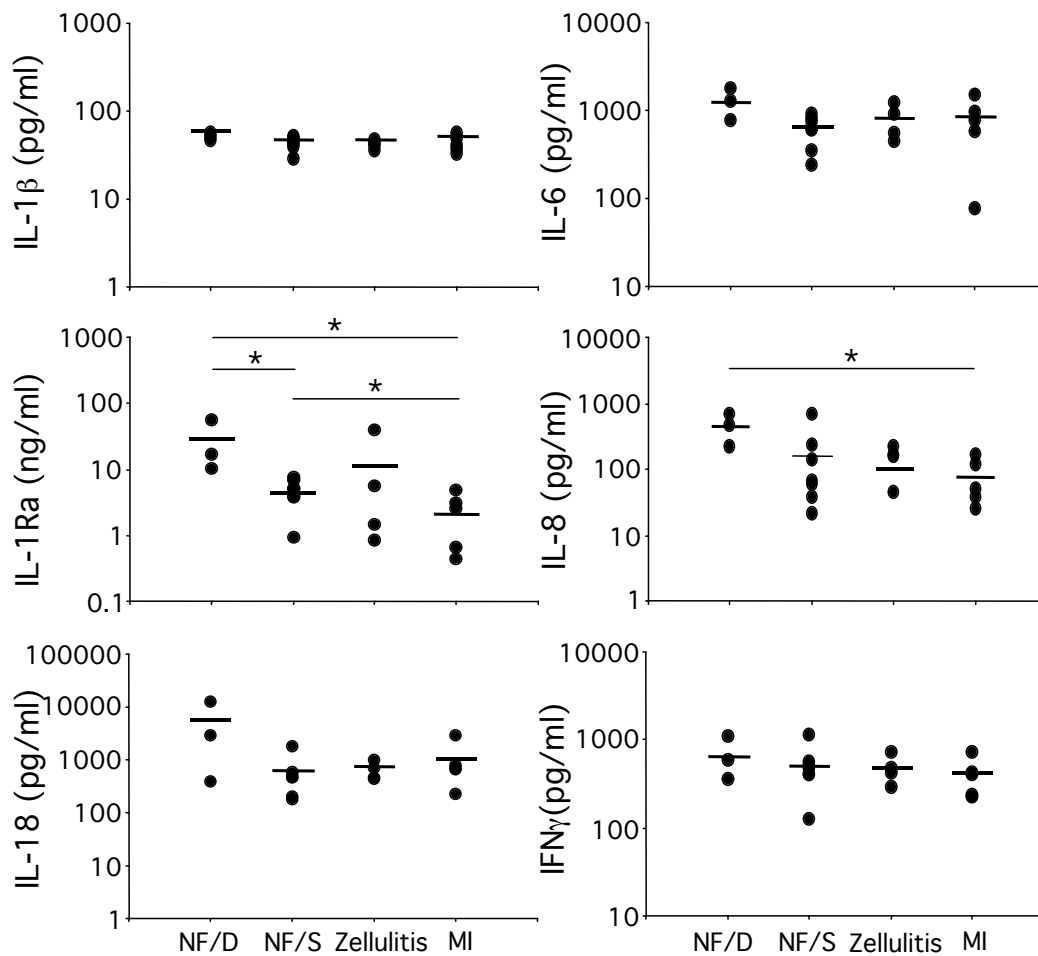
### 3.5 Serumzytokinspiegel im Verlauf

Unter der Vorstellung, dass die einzelnen Zytokine mit unterschiedlicher Kinetik ausgeschüttet werden, wurden die Zytokinspiegel in Zeitabständen von jeweils sechs Stunden nach Aufnahme gemessen. Sechs Stunden nach Aufnahme waren im Serum der Patienten mit NF/D die Spiegel von IL-1 $\beta$  und IL-1Ra signifikant gegenüber der Patienten mit NF/S erhöht (Abbildung 4). Zum gleichen Zeitpunkt war IL-8 in NF/D deutlich höher als in den Patienten mit Zellulitis oder der Kontrollgruppe mit Myokardinfarkt, jedoch nicht gegenüber den Patienten mit NF/S. Die Serumspiegel für IFN $\gamma$  in den Patienten mit NF/D waren nur gegenüber den Patienten mit Myokardinfarkt erhöht. Für IL-18 und IL-6 ergaben sich sechs Stunden nach Aufnahme keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Patientengruppen. Insbesondere war im Serum der überlebenden Patienten mit NF keines der gemessenen Zytokine im Vergleich zu den Patienten mit Zellulitis oder Myokardinfarkt erhöht (Abbildung 4).



**Abbildung 4.** Zytokinspiegel von IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18, IL-6, IL-8 und IFN $\gamma$  sechs Stunden nach Aufnahme. Die Serumproben von Patienten mit Verdacht auf NF, Zellulitis oder MI wurden sechs Stunden nach Aufnahme in die Nothilfe gewonnen. Unterschiede zwischen den Zytokinspiegeln der vier verschiedenen Patientengruppen wurden mit dem Mann-Whitney-Test für nicht parametrische Variablen berechnet. Die horizontalen Balken geben den entsprechenden Median wieder. \* entspricht  $p < 0,05$ ; \*\* entspricht  $p < 0,01$ . MI entspricht Myokardinfarkt.

Die Spiegel von IL-1Ra im Serum der Patienten mit NF/D waren auch zwölf Stunden nach Aufnahme gegenüber den Patienten mit NF/S signifikant erhöht. Weiterhin waren zu diesem Zeitpunkt die Werte für IL-1Ra und IL-8 in der Patientengruppe mit NF/D höher als in der Kontrollgruppe mit Myokardinfarkt (Abbildung 5). In den Patienten mit NF/S waren die Serumspiegel für IL-1Ra geringgradig, jedoch statistisch signifikant niedriger als in den Patienten mit Zellulitis. Für IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-6 und IFN $\gamma$  wurden zwölf Stunden nach Aufnahme keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Patientengruppen beobachtet (Abbildung 5).



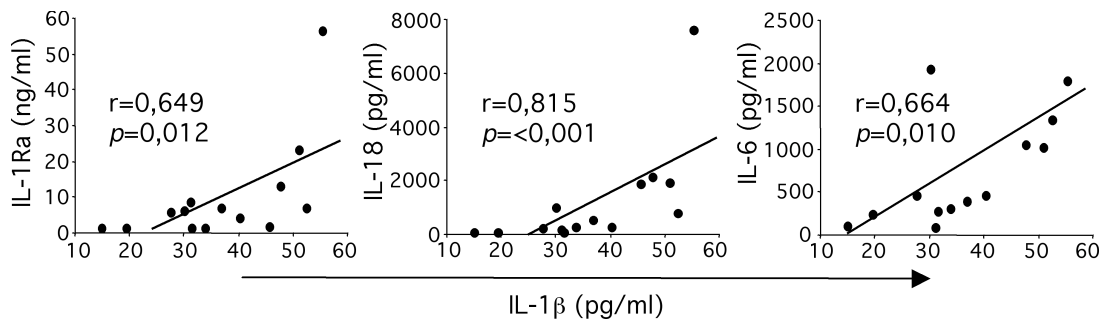
**Abbildung 5.** Zytokinspiegel von IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18, IL-6, IL-8 und IFN $\gamma$  zwölf Stunden nach Aufnahme. Die Serumproben von Patienten mit Verdacht auf NF, Zellulitis oder MI wurden zwölf Stunden nach Aufnahme in die Nothilfe gewonnen. Unterschiede zwischen den Zytokinspiegeln der vier verschiedenen Patientengruppen wurden mit dem Mann-Whitney-Test für nicht parametrische Variablen berechnet. Die horizontalen Balken geben den entsprechenden Median wieder. \* entspricht  $p < 0,05$ . MI entspricht Myokardinfarkt.

### 3.6 Korrelation der Zytokine bei Aufnahme

Es ist bekannt, dass im Rahmen systemischer Infektionen wie Sepsis die Serumspiegel pro- und antiinflammatorischer Zytokine gleichzeitig erhöht sind (Dinarello, 1997). Da wie oben erwähnt, das Zeitfenster der maximalen Ausschüttung für einzelne Zytokine variiert, kann sich entsprechend die Korrelation verschiedener Zytokine im Verlauf einer Erkrankung ändern. Unter dieser Vorstellung berechneten wir auch bei unserem Patientenkollektiv mit NF, ob die untersuchten Serumzytokinspiegel untereinander bei

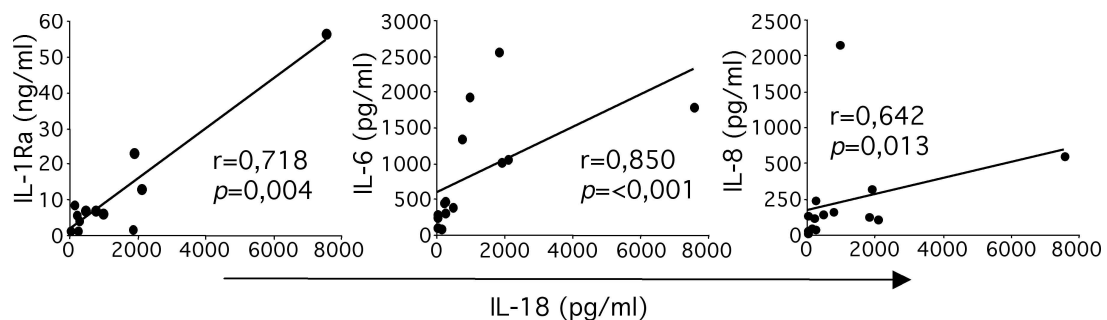


Aufnahme und anschließend im Zeitabstand von jeweils sechs Stunden miteinander korrelierten.



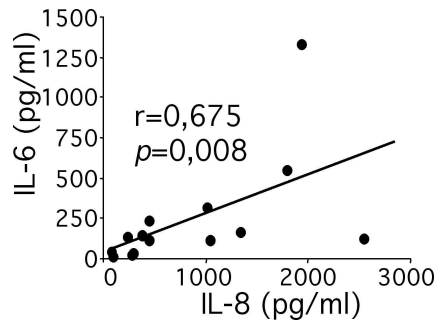
**Abbildung 6.** Korrelation von IL-1β mit IL-1Ra, IL-18 und IL-6 bei Aufnahme der Patienten mit Nekrotisierender Faszitis. Die Korrelation der angegebenen Zytokine wurde mit dem Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen berechnet. Die korrespondierenden  $p$ - und  $r$ -Werte sind über den Graphen angegeben.

Bei Aufnahme zeigte sich für IL-1β eine positive Korrelation mit dem Antagonisten IL-1Ra und den proinflammatorischen Zytokinen IL-18 und IL-6 (Abbildung 6). IL-18 korrelierte darüber hinaus bei Aufnahme in den Patienten mit NF positiv mit IL-Ra, IL-6 und IL-8 (Abbildung 7). Keine signifikanten Korrelationen konnten für IFN $\gamma$  mit den anderen untersuchten Zytokinen errechnet werden.



**Abbildung 7.** Korrelation von IL-18 mit IL-1Ra, IL-6 und IL-8 bei Aufnahme der Patienten mit NF. Die Korrelation der angegebenen Zytokine wurde mit dem Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen berechnet. Die korrespondierenden  $p$ - und  $r$ -Werte sind unter oder über dem jeweiligen Graphen angegeben.

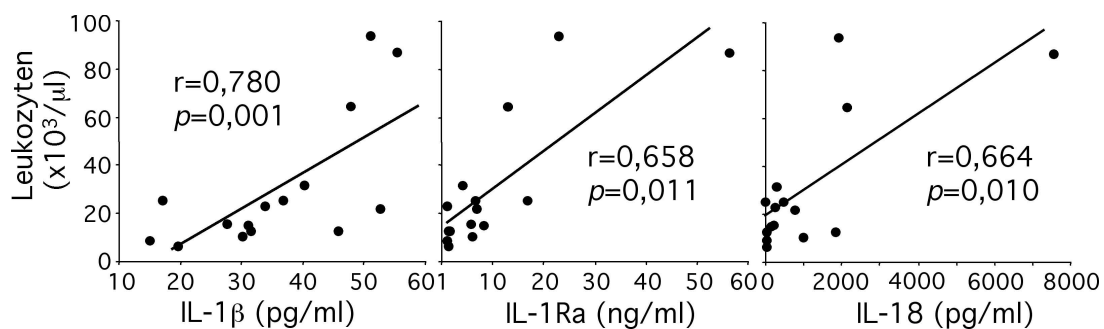
Dagegen zeigte sich zu diesem Zeitpunkt auch für IL-6 und IL-8 eine positive Korrelation (Abbildung 8). Die Ergebnisse für die Korrelationen der einzelnen Zytokine sind auch in Tabelle 9 zusammengefasst.



**Abbildung 8.** Korrelation von IL-6 und IL-8 bei Aufnahme der Patienten mit NF. Die Korrelation der angegebenen Zytokine wurde mit dem Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen berechnet. Die korrespondierenden  $p$ - und  $r$ -Werte sind im Graphen angegeben.

### 3.7 Korrelation der Leukozyten und Zytokine bei Aufnahme

Auf der Suche nach weiteren Parametern, die eine Aussage über den zu erwartenden Krankheitsverlauf ermöglichen, wurden verschiedene Prädilektionsfaktoren wie Leukozytenzahlen und Serumzytokinspiegel miteinander korreliert. Wie in Abbildung 9 und auch Tabelle 9 gezeigt, korrelierten bei Aufnahme der Patienten mit NF die Leukozytenwerte hochsignifikant positiv mit den Serumkonzentrationen der Zytokine der IL-1-Familie, IL-1 $\beta$ , IL-1Ra und IL-18.



**Abbildung 9.** Korrelation von Leukozyten und Zytokinen bei Aufnahme. Die Korrelation der angegebenen Zytokine wurde mit dem Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen berechnet. Die korrespondierenden  $p$ - und  $r$ -Werte sind über den Graphen angegeben.

Keine signifikanten Zusammenhänge zeigten sich dagegen zwischen den Leukozytenzahlen und den Serumspiegeln von IL-6, IL-8 oder IFN $\gamma$ .

**Tabelle 9.** Korrelation der Leukozyten und der Zytokine bei Aufnahme\*

r-Wert		Leukos	IL-1 $\beta$	IL-1Ra	IL-18	IL-6	IL-8	IFN $\gamma$	p-Wert
		Leukos		<b>0.001</b>	<b>0.011</b>	<b>0.010</b>	0.267	0.197	
	IL-1 $\beta$	<b>0.780</b>		<b>0.012</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.013</b>	0.085	0.098	
	IL-1Ra	<b>0.658</b>	<b>0.649</b>		<b>0.004</b>	0.128	0.032	0.190	
	IL-18	<b>0.664</b>	<b>0.815</b>	<b>0.718</b>		<b>&lt;0.001</b>	<b>0.013</b>	0.080	
	IL-6	0.319	<b>0.644</b>	0.427	<b>0.850</b>		<b>0.008</b>	0.140	
	IL-8	0.367	0.477	0.574	<b>0.642</b>	<b>0.675</b>		0.911	
	IFN $\gamma$	0.442	0.459	0.372	0.483	0.415	0.033		

\* Berechnung der r-Werte und p-Werte nach Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen. Leukozytenwerte sind in der Tabelle mit "Leukos" abgekürzt. Die fett hervorgehobenen Werte sind statistisch signifikant.

### 3.8 Korrelation der Zytokine im Zeitverlauf

Wie zum Zeitpunkt der Aufnahme, fand sich nach sechs Stunden im Kollektiv der Patienten mit NF eine signifikant positive Korrelation zwischen IL-1 $\beta$  und IL-1Ra sowie IL-18 und IL-6. Darüber hinaus ergab sich zu diesem Zeitpunkt ein positiver Zusammenhang zwischen den Serumspiegeln von IL-1 $\beta$  und IFN $\gamma$ .

**Tabelle 10.** Korrelation der Zytokine 6 Stunden nach Aufnahme\*

r-Wert		IL-1 $\beta$	IL-1Ra	IL-18	IL-6	IL-8	IFN $\gamma$	p-Wert
		IL-1 $\beta$		<b>0.006</b>	0.388	0.288	0.775	
	IL-1Ra	<b>0.719</b>		0.844	0.922	0.420	0.167	
	IL-18	0.261	0.061		<b>0.041</b>	0.064	0.629	
	IL-6	0.319	0.030	<b>0.571</b>		0.603	0.517	
	IL-8	-0.088	0.245	0.527	0.159		0.263	
	IFN $\gamma$	<b>0.732</b>	0.407	-0.148	0.198	0.335		

\*Berechnung der r-Werte und p-Werte nach Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen. Die fett hervorgehobenen Werte sind statistisch signifikant.

Für IL-8 konnten im Gegensatz zur Blutentnahme bei Aufnahme keine signifikanten Korrelationen zwischen den verschiedenen Patientengruppen berechnet werden (Tabelle 10).

Nach zwölf Stunden bestand weiterhin eine positive Korrelation zwischen IL-1 $\beta$  und IL-1Ra sowie IL-18 und IL-6. Neu ist zu diesem Zeitpunkt die positive Korrelation zwischen IL-1Ra und IL-6. Für IL-8 und IFN $\gamma$  können zwölf Stunden nach Aufnahme keine signifikanten Korrelationen mit den anderen Zytokinen berechnet werden (Tabelle 11).

**Tabelle 11.** Korrelation der Zytokine zwölf Stunden nach Aufnahme\*

		<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>IL-1Ra</b>	<b>IL-18</b>	<b>IL-6</b>	<b>IL-8</b>	<b>IFN<math>\gamma</math></b>	
r-Wert	<b>IL-1<math>\beta</math></b>		<b>0.039</b>	0.403	0.487	0.868	0.132	p-Wert
	<b>IL-1Ra</b>	<b>0.657</b>		0.200	<b>0.048</b>	0.200	0.467	
	<b>IL-18</b>	0.298	0.442		<b>0.048</b>	0.511	0.365	
	<b>IL-6</b>	0.249	<b>0.636</b>	<b>0.636</b>		0.385	0.726	
	<b>IL-8</b>	-0.061	0.442	0.236	0.309		0.726	
	<b>IFN<math>\gamma</math></b>	0.132	0.261	-0.321	0.127	-0.127		

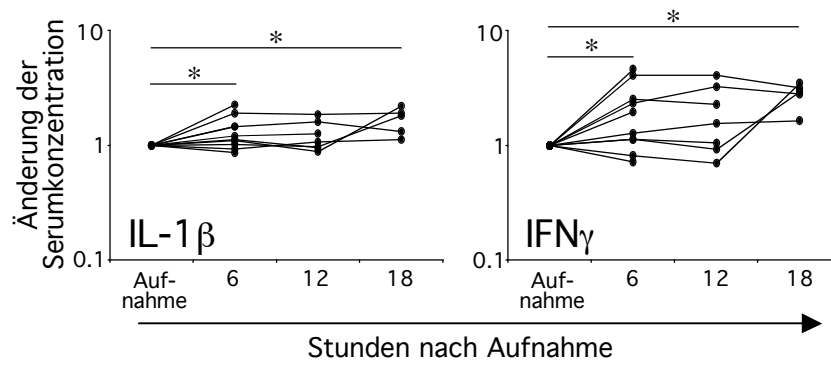
\*Berechnung der r-Werte und p-Werte nach Spearman-Test für nicht-parametrische Variablen. Die fett hervorgehobenen Werte sind statistisch signifikant.

### 3.9 Zeitverlauf der Serumzytokinspiegel

Bei der Planung dieser Studie wurde angenommen, dass besonders die Patienten mit NF aufgrund der, im Verlauf der Erkrankung generalisierten Entzündungsreaktion Anstiege der Serumspiegel pro- und antiinflammatorischer Zytokine aufweisen würden. Ein wichtiger Teil war daher die Messung der Zytokinspiegel im Zeitverlauf.

Signifikante Unterschiede im Zeitverlauf der Zytokinspiegel ergaben sich nur für die Gruppe der Überlebenden mit NF. Innerhalb der ersten sechs Stunden stiegen sowohl die Serumspiegel für IL-1 $\beta$  wie auch für IFN $\gamma$  signifikant an. Auch nach 18 Stunden sind die Serumspiegel von IL-1 $\beta$  und IFN $\gamma$  im Vergleich zu den Werten bei Aufnahme

signifikant erhöht (Abbildung 10). Für IL-1Ra, IL-18, IL-6 oder IL-8 zeigten sich im untersuchten Zeitrahmen keine signifikanten Veränderungen der Serumspiegel.



**Abbildung 10.** Zeitverlauf der Serumspiegel von IL-1 $\beta$  und IFN $\gamma$  in der Gruppe der überlebenden Patienten mit NF. Die Änderungen der Serumzytokinspiegel im Zeitverlauf wurden mit dem Wilcoxon-Test für nicht normalverteilte Stichproben berechnet. \* entspricht  $p < 0,05$ .

## 4 Diskussion

### 4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Grundlage der vorliegenden Arbeit ist eine prospektive klinische Studie, in der über den Zeitraum von 36 Stunden nach Aufnahme das Zytokinprofil von Patienten mit Verdacht auf NF bestimmt wurde. Bei fünfzehn von zwanzig Patienten wurde die Diagnose NF bestätigt, fünf Patienten hatten eine Zellulitis und weitere fünf Patienten mit Myokardinfarkt wurden als Kontrollgruppe eingeschlossen. Achtzehn der zwanzig Patienten mit Verdacht auf NF waren intravenös drogenabhängig. Fünf der fünfzehn Patienten mit nachgewiesener NF verstarben (33%). Bei Patienten mit tödlichem Ausgang der NF waren bei Aufnahme die Serumspiegel für IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18 und IFN $\gamma$ , sowie die Anzahl der Blutleukozyten im Vergleich zu den Überlebenden signifikant erhöht. Während der ersten zwölf Stunden nach Aufnahme blieben insbesondere die Werte für IL-1Ra in der Gruppe der verstorbenen Patienten mit NF gegenüber den Überlebenden erhöht. Außerdem zeigte sich, dass bei Aufnahme die Patienten mit NF/D höhere Serumkonzentrationen von IL-1Ra und Leukozytenwerte als die Patienten mit Zellulitis aufwiesen. Für IL-6 und IL-8 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit NF oder Zellulitis gesehen. Bei allen Patienten mit NF korrelierten die Serumspiegel für die Zytokine der IL-1-Familie, IL-1 $\beta$ , IL-1Ra und IL-18, positiv mit der Anzahl der Leukozyten bei Aufnahme. Darüber hinaus war bei Aufnahme die Infektion mit *Staph. aureus* in Patienten mit NF mit erhöhten Werten für IL-1 $\beta$  und IL-18 assoziiert. Zusammenfassend ist festzustellen, dass erhöhte Serumspiegel von IL-1 $\beta$ , IL-18, IFN $\gamma$  und insbesondere IL-1Ra mit tödlichem Ausgang der NF assoziiert sind. Die Messung dieser Zytokine sowie der Blutleukozyten könnte somit zur schnelleren Diagnosefindung und Abschätzung der Prognose bei NF beitragen und damit durch frühzeitige Einleitung einer aggressiven Therapie möglicherweise zur Verbesserung der Überlebensrate beitragen.

## 4.2 Methodendiskussion

### 4.2.1 Studiendesign

Die NF ist eine sehr seltene Erkrankung, die vor allem im Frühstadium nicht sicher von der Zellulitis als weniger aggressiv verlaufende Erkrankung abgrenzbar ist. Für die vorliegende Studie wurde deshalb ein offenes, prospektives Studiendesign gewählt. Es wurde bei Patienten, die mit dem Verdacht auf NF oder Zellulitis in die Notaufnahme eines Krankenhauses der Maximalversorgung eingeliefert wurden, im Rahmen der Routinediagnostik zusätzlich Serumproben zur Zytokinanalyse gewonnen. Diese Proben wurden anonymisiert und nach Abschluss der Rekrutierungsphase geblendet in einem Versuchsansatz pro Zytokin analysiert. Damit wurde eine größtmögliche Vergleichbarkeit der intra- und interindividuellen Messergebnisse sichergestellt. Da die Mortalität der Patienten mit NF letztlich durch eine überschießende systemische Entzündungsreaktion bestimmt wird, wurden als Kontrollgruppe Patienten mit Myokardinfarkt eingeschlossen, bei welchen die kardiale Dekompensation und weniger eine systemische Entzündungsreaktion die akute Morbidität bestimmt.

### 4.2.2 Serumzytokine

Erhöhte Zytokinkonzentrationen werden einerseits lokal in entzündetem Gewebe und andererseits im Rahmen fortschreitender systemischer Entzündungsreaktionen auch in der Zirkulation gefunden. Warum wurden im Rahmen dieser Studie die Serumspiegel von Zytokinen bestimmt? Ein Hauptvorteil ist die einfache Probengewinnung durch venöse Blutentnahmen. Für den lokalen Nachweis von Zytokinen im entzündeten Gewebe sind dagegen Biopsien notwendig. Durch die Invasivität dieser Methode ist die Messung der Zytokine im Zeitverlauf nicht möglich, was ein entscheidender Aspekt für das Design dieser Studie war.

Es wurden gut charakterisierte Zytokine ausgewählt, für die reproduzierbare Nachweismethoden verfügbar sind. Es wurden pro- und antiinflammatorische Zytokine gemessen, die im Rahmen von schweren Entzündungsreaktionen hochreguliert werden. Dabei ist bekannt, dass bei schweren Infektionen wie Sepsis die Serumspiegel pro- oder antiinflammatorischer Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 und TNF $\alpha$  oder IL-10 und

IL-1Ra erhöht sind (Dinarello, 1997). Diese Beobachtung wurde sowohl am Beispiel immunkompetenter (Calandra et al., 1991; Casey et al., 1993; Gogos et al., 2000; Kasai et al., 1997; Lin et al., 2000; Simpson et al., 2000; Waage und Aasen, 1992) als auch immungeschwächter, neutropenischer Patienten mit onkologischer Grunderkrankung gemacht (Engel et al., 1998; Engervall et al., 1995; Heney et al., 1992; Hynninen et al., 1995). Weniger Information liegen bisher für IL-18 vor. In jüngerer Zeit wurden drei Arbeiten publiziert, in welchen auch eine Erhöhung von IL-18 im Serum septischer Patienten berichtet wurde (Grobmyer et al., 2000; Novick et al., 2001; Oberholzer et al., 2000). Übereinstimmend korrelierten bei Sepsis am besten erhöhte Serumspiegel von IL-6 mit dem Auftreten schwerer Komplikationen, einschließlich Tod (Casey et al., 1993; Engel et al., 1998; Hynninen et al., 1995; Steinmetz et al., 1995).

#### 4.2.3 Elektrochemilumineszenz als Methode zur Zytokinmessung

Zur Messung der Zytokinkonzentrationen setzten wir das Verfahren der Elektrochemilumineszenz ein. Dies ist eine in unserem Labor etablierte Messmethode, die täglich angewendet wird und gegenüber anderen Messmethoden, wie z. B. Radioimmunassay und Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) mehrere Vorteile bietet: es werden keine Radioisotopen benötigt, die Markierungen der verwendeten Antikörper sind sehr stabil und der dynamische Messbereich ist sehr breit bei einer hohen Sensitivität. Außerdem ist die Methode schnell durchführbar verbunden mit einem relativ geringen Arbeitsaufwand (Blackburn et al., 1991; Deaver, 1995).

### **4.3 Ergebnisinterpretation im Vergleich zur Literatur**

#### 4.3.1 Klinische Charakteristika der Patienten mit nekrotisierender Fasziiitis

Die epidemiologischen Daten unserer Studienpopulation entsprechen mit einem Alter zwischen 26 und 59 Jahren den Literaturangaben, in denen die höchste Inzidenz für das Erwachsenenalter angegeben wird (Bosshardt et al., 1996; Elliott et al., 1996; Majeski und Majeski, 1997; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Als prädisponierend für eine Erkrankung an NF sowie für eine erhöhte Sterblichkeit wird in vielen Studien unter anderem der intravenöse Drogenabusus genannt (Bosshardt et al., 1996; Francis et



al., 1993; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Damit übereinstimmend waren bei unserem Patientengut 100% der Verstorbenen und 90% der Überlebenden intravenös drogenabhängig. Entsprechend der Literatur waren auch in unserer Studie der Hauptmanifestationsort der NF die Extremitäten (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; Cunningham et al., 2001; Sharma et al., 2002; Sudarsky et al., 1987).

In mehreren retrospektiven Studien wurde bei Patienten mit NF eine Erhöhung der Körpertemperatur unterschiedlicher Ausprägung zum Zeitpunkt der Aufnahme beschrieben, auch wenn noch keine imponierende Lokalsymptomatik besteht. Zusammenfassend wird ein Bereich über 38°C als in 32-100% der Fälle angegeben (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; Cunningham et al., 2001; McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987). Prinzipiell scheint dies nicht verwunderlich, da es sich um eine ausgeprägte Entzündungsreaktion handelt. Umso bemerkenswerter waren unsere Ergebnisse zur Körpertemperatur bei Klinikaufnahme. Besonders die Patienten mit NF, die später verstarben, waren initial afebril mit einer Körpertemperatur von  $36.6 \pm 1.3^\circ\text{C}$ , während die Überlebenden leicht erhöhte Temperaturen von  $37.5 \pm 1.1^\circ\text{C}$  bei Aufnahme hatten. Auch die Patienten mit Zellulitis hatten eine erhöhte Körpertemperatur von  $38.3 \pm 1.3^\circ\text{C}$ . Wenn auch die Unterschiede rechnerisch nicht signifikant waren, so war es doch unerwartet, dass bei unserem Patientenkollektiv kein Zusammenhang zwischen erhöhter Körpertemperatur und Ausgang der NF bestand. In Übereinstimmung mit der Studie von Elliott und Mitarbeitern waren sämtliche Studienpatienten bei Aufnahme in die Notaufnahme kreislaufstabil (Elliott et al., 1996).

Die schnelle Diagnosefindung und frühzeitige aggressive Therapie bestimmen die Mortalität der Patienten mit NF (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; Elliott et al., 1996; Heitmann et al., 2001; McHenry et al., 1995). Insbesondere in der Studie von McHenry et al. (McHenry et al., 1995) zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied im Zeitintervall zwischen Aufnahme und dem ersten operativen Eingriff zwischen überlebenden und verstorbenen Patienten mit NF ( $25 \pm 39$  versus  $90 \pm 95$  Stunden,  $p=0.0002$ ). Bei unserem Patientengut mit NF konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang für das Zeitintervall zwischen Aufnahme der Patienten und dem ersten operativen Eingriff eruiert werden, was unter Umständen durch die relativ geringe Fallzahl zu erklären ist. Möglicherweise führte auch die ungewöhnliche Häufung der

Patienten mit NF am General Highland Hospital in Oakland bei den behandelnden Ärzten zu schnellerer Diagnosefindung und aggressiverem Vorgehen.

#### 4.3.2 Bakteriologische Ergebnisse

In Übereinstimmung mit Studien aus jüngerer Zeit (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; Singh et al., 1996) fanden wir in dem von uns untersuchten Patientengut ein polymikrobielles Bakterienspektrum mit mindestens einem Gram-positiven Keim. Am häufigsten wurden wie in der retrospektiven Analyse von Singh und Kollegen (Singh et al., 1996) *Staph. aureus* nachgewiesen. Auffallend war in unserer Studie jedoch, dass *Staph. aureus* in der überwiegenden Anzahl der verstorbenen Patienten mit NF gefunden wurde. Dieser Zusammenhang wurde bisher noch nicht berichtet. Möglicherweise spielt hier das selektionierte Patientenkollektiv mit weit über 90% intravenöser Drogenabhängiger die ausschlaggebende Rolle. Die Häufigkeit  $\beta$ -hämolisierender *Streptokokken* der Gruppe A oder B in drei von fünfzehn Fällen (20%) stimmt ebenfalls mit den neueren Literaturangaben überein (Bosshardt et al., 1996; Childers et al., 2002; Singh et al., 1996). Nur zwei von fünfzehn Patienten (13%) wiesen eine Monoinfektion auf. Anders als in den oben zitierten Studien fanden wir bei Anaerobierinfektionen vorwiegend *Clostridium spp.*

#### 4.3.3 Leukozytenwerte bei Aufnahme

In der Literatur wird bei Patienten mit NF eine Leukozytose bei Aufnahme von über 10000/ $\mu$ l (McHenry et al., 1995; Sudarsky et al., 1987) bis über 20000/ $\mu$ l (Bosshardt et al., 1996) angegeben. Ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Leukozytose und der Prognose wurde bisher noch nicht beschrieben (Elliott et al., 1996). Dagegen hatten in unserer Studie die verstorbenen Patienten mit NF bereits bei Aufnahme signifikant höhere Leukozytenzahlen als die Überlebenden oder Patienten mit Zellulitis. Ursache hierfür könnte die höhere Konzentration proinflammatorischer Zytokine im Serum dieser Patienten sein, da insbesondere IL-1 $\beta$  die Freisetzung von Leukozyten aus dem Knochenmark induziert (Dinarello, 1996).

#### 4.3.4 Serumzytokinspiegel bei Aufnahme

Bisher wurden noch wenige Daten zum Zytokinmuster bei NF publiziert. In der vorliegenden Studie konnten wir zeigen, dass neben der Erhöhung der Leukozyten erhöhte Serumspiegel für IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18 und IFN $\gamma$  bei Aufnahme mit letalem Ausgang der Erkrankung assoziiert sind. Diese Ergebnisse sind insbesondere von Bedeutung, als sämtliche Patienten bei Aufnahme in ähnlicher klinischer Verfassung waren und daraus primär keine Aussage zur Prognose abgeleitet werden konnte.

Wichtigste Differentialdiagnose zur NF ist die Zellulitis. Da die Prognose von NF bei frühzeitigem operativen Vorgehen entscheidend besser ist (Childers et al., 2002; Cunningham et al., 2001; Elliott et al., 1996; Majeski und Majeski, 1997; McHenry et al., 1995), sind besonders laborchemische oder klinische Parameter von Bedeutung, die eine Unterscheidung der NF von der Zellulitis im Anfangsstadium der Erkrankung zulassen. Wir konnten zeigen, dass nur IL-1Ra bereits bei Aufnahme im Serum der Patienten mit letal verlaufender NF gegenüber den Patienten mit Zellulitis erhöht war. Ebenso fanden sich signifikant erhöhte Leukozytenwerte im Blut der Patienten mit letal verlaufender NF gegenüber den Patienten mit Zellulitis. Kein Unterschied bestand jedoch zwischen den Serumspiegeln für IL-1Ra bzw. den Leukozytenwerten von den überlebenden Patienten mit NF und den Patienten mit Zellulitis. Damit unterstützt das Vorliegen erhöhter IL-1Ra-Serumspiegel und einer Leukozytose zwar nicht die globale Differenzierung zwischen NF und Zellulitis, erlaubt aber möglicherweise eine frühzeitige Unterscheidung zwischen Patienten mit fataler NF und Zellulitis und würde somit ein schnelleres, radikaleres operatives Vorgehen gerechtfertigen. Zunächst sollte jedoch diese Beobachtung an einer größeren Patientenkohorte überprüft werden, um verlässlichere Daten zu erhalten. Auch wenn die Leukozytenwerte dieselbe Information wie IL-1Ra ergeben, unterstützt IL-1Ra als zusätzlicher Parameter die Diagnose.

Anders als im Vergleich zu Patienten mit Sepsis als Beispiel einer schweren Gram-negativen Infektion (Engel et al., 1998; Soker et al., 2001) konnten wir in der vorliegenden Studie zeigen, dass bei Patienten mit NF als Beispiel einer schweren Gram-positiven Infektion die Serumspiegel von IL-6 und IL-8 im Vergleich zu den Zytokinen der IL-1-Familie nur gering erhöht waren. Diese Ergebnisse stimmen mit der

Studie von Feezor und Kollegen überein, dass das Erregerspektrum (Gram-negative versus Gram-positive Bakterien) einen entscheidenden Einfluss auf das Zytokinprofil hat (Feezor et al., 2003).

#### 4.3.5 Serumzytokinspiegel im Verlauf

Einzelne Zytokine unterscheiden sich sowohl im Zeitfenster der maximalen Ausschüttung nach Beginn einer Infektion als auch in der Serumhalbwertszeit. Deshalb wurde in dieser Studie die Bestimmung der Zytokine in Serumproben wiederholt, die sechs, zwölf bzw. achtzehn Stunden nach Aufnahme gewonnen wurden. Die Unterschiede zwischen den Patientengruppen für IL-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-18 und IFN $\gamma$  waren nach sechs Stunden ähnlich wie zum Zeitpunkt der Aufnahme. Da ein Patient mit NF jedoch zu diesem Zeitpunkt bereits verstorben war, ergab sich aufgrund der reduzierten Fallzahl in der Gruppe der verstorbenen Patienten kein signifikanter Unterschied mehr von IL-18 und IFN $\gamma$  zwischen der Gruppe der überlebenden und verstorbenen Patienten mit NF. IL-8 war erst sechs Stunden nach Aufnahme bei den Patienten mit letal verlaufender NF gegenüber den Patienten mit Zellulitis und der Kontrollgruppe mit Myokardinfarkt erhöht, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den überlebenden und verstorbenen Patienten mit NF bestand.

Nach zwölf Stunden waren nur noch IL-1Ra und IL-8 signifikant erhöht in der Gruppe der verstorbenen gegenüber den überlebenden Patienten mit NF bzw. der Kontrollgruppe mit Myokardinfarkt. Die auch hier beobachtete prolongierte Ausschüttung von IL-1Ra ist im Rahmen schwerer Infektionen bekannt (Gardlund et al., 1995; Rogy et al., 1994) und entspricht einer physiologischen Gegenregulation, um einerseits erhöhte Serumspiegel von IL-1 $\beta$  zu neutralisieren, welche systemische Toxizität verursachen, und um andererseits lokal ausgeschüttetes IL-1 $\beta$  zu neutralisieren und damit die fortschreitende Gewebszerstörung zu reduzieren (Dinarello, 1996).

Aufgrund der reduzierten Fallzahl durch Todesfälle oder fehlende Blutabnahmen konnten achtzehn Stunden nach Aufnahme die Zytokinspiegel der verschiedenen Patientengruppen nicht mehr statistisch ausgewertet werden.

Wir konnten bei letalem Verlauf der NF keinen signifikanten Anstieg oder Abfall der Serumzytokinspiegel im Zeitverlauf über achtzehn Stunden beobachten. Nur in der Gruppe der überlebenden Patienten mit NF stiegen die Serumspiegel von IL-1 $\beta$  und IFN $\gamma$  signifikant an. Im Gegensatz dazu zeigten Engervall und Kollegen, dass bei neutropenischen Patienten mit Gram-negativer Sepsis IL-1Ra, IFN $\gamma$  und IL-6 bereits innerhalb von zwei bis vier Stunden nach Eintreten des ersten Fieberschubs Maximalwerte im Serum aufweisen und anschließend wieder abfallen (Engervall et al., 1995). Kragstjerg und Kollegen berichteten, dass IL-6 innerhalb der ersten 24 Stunden nach Therapiebeginn bei überlebenden Patienten mit Gram-negativer Sepsis wieder rasch abfällt (Kragstjerg et al., 1996).

Unterschiede im Krankheitsbild können die Diskrepanz zu unseren Ergebnissen erklären und es ist denkbar, das im Rahmen der NF anders als bei Sepsis auch bei den überlebenden Patienten das Immunsystem stärker und länger anhaltend zur Ausschüttung pro- und antiinflammatorischer Zytokine stimuliert wird. Die Anwendung alternativer Meßmethoden (ECL *versus* ELISA) in den verschiedenen Studien könnte Unterschiede der absoluten Zytokinkonzentrationen erklären, der Zeitverlauf der Zytokinspiegel sollte dadurch jedoch nicht beeinflusst werden.

#### 4.3.6 Korrelation von Zytokinen und Blutleukozyten

Trotz geringerer Serumspiegel von IL-6 und IL-8 bei den Patienten mit NF als vorwiegend Gram-positive Erkrankung fanden wir im Vergleich zu Gram-negativer Sepsis übereinstimmend mit der Literatur eine positive Korrelation beider Zytokine (Hack et al., 1992; Marty et al., 1994). Darüber hinaus beobachteten wir eine signifikante Korrelation vor allem zwischen den Zytokinen der IL-1-Familie wie IL-1 $\beta$ , IL-1Ra und IL-18. Ebenso wie Marty und Mitarbeiter in Patienten mit Gram-negativer Sepsis fanden wir keine Korrelation von IL-1 $\beta$  und IL-8 (Marty et al., 1994). Jedoch anders als im Rahmen Gram-negativer Infektionen (Calandra et al., 1991) beobachteten wir eine signifikante Korrelation von IL-1 $\beta$  und IL-6.

IL-1 induziert die Mobilisierung von Leukozyten aus dem Knochenmark (Dinarello, 1996). In Übereinstimmung dazu fanden wir bei den Patienten mit NF eine positive

Korrelation zwischen IL-1 $\beta$  und Blutleukozyten. Auch IL-1Ra und IL-18 als weitere Mitglieder der IL-1-Familie korrelierten positiv mit den Leukozytenzahlen. Interessanterweise korrelieren dagegen im Rahmen Gram-negativer Infektionen nicht die Zytokine der IL-1 Familie, sondern z. B. IL-6 und IL-8 positiv mit den Leukozytenzahlen (Oberholzer et al., 2002).

#### **4.4 Klinische Relevanz der Ergebnisse**

In dieser Studie wurden erstmals prospektiv die Zytokinspiegel bei Patienten mit NF, unterschieden nach Überlebenden und Verstorbenen gemessen, um weitere Parameter zur Diagnostik und Prognose zu identifizieren. Es zeigte sich, dass vor allem IL-1Ra gemeinsam mit den Blutleukozyten zur Frühdiagnostik der NF und Abschätzung der Prognose von Bedeutung ist. Zusammenfassend ist festzustellen, dass solange noch keine schnelle, zuverlässige Methode zur Messung von IL-1Ra verfügbar ist, eine ausgeprägte Leukozytose ohne Fieber bei entsprechender klinischer Symptomatik den Verdacht auf NF lenken sollte. In diesem Fall ist ein rasches operatives Vorgehen gerechtfertigt, um die Prognose des Patienten zu verbessern. Weitere Studien müssen zeigen, ob die frühzeitige Zytokinbestimmung entscheidende Fortschritte in der Frühdiagnostik schwerer Infektionen bringen wird.

## 5 Zusammenfassung

Die nekrotisierende Fasziiitis ist eine seltene, ungewöhnlich schwere Entzündung der Faszien und des Subkutangewebes. Ursache ist eine meist polymikrobielle Infektion. Schwierig ist eine frühzeitige Abgrenzung von der Zellulitis, einer subkutan begrenzten Phlegmone. Die Therapie der nekrotisierenden Fasziiitis besteht in der frühen Einleitung aggressiver chirurgischer Maßnahmen zur Sanierung des betroffenen Gewebes mit wiederholten Debridements und intravenöser Gabe von Breitspektrum-Antibiotika. Wird die nekrotisierende Fasziiitis nicht frühzeitig therapiert, so zeichnet sie sich durch eine hohe Mortalitätsrate von 30 bis 50 % aus.

Mit Hilfe dieser Arbeit sollte die Frage beantwortet werden, ob die Messung von Serumzytokinen zu einer frühzeitigen Diagnosefindung und Abschätzung der Prognose bei nekrotisierender Fasziiitis beitragen kann. Grundlage der vorliegenden Arbeit ist eine prospektive klinische Studie, in der über maximal 36 Stunden nach Aufnahme das Zytokinprofil mit Hilfe der Elektrochemilumineszenzmethode von Patienten mit Verdacht auf nekrotisierende Fasziiitis bestimmt wurde. Bei fünfzehn von zwanzig Patienten wurde die Diagnose nekrotisierende Fasziiitis bestätigt, fünf Patienten hatten eine Zellulitis und weitere fünf Patienten mit Myokardinfarkt wurden als Vergleichspatienten eingeschlossen.

Bei den fünf Patienten mit tödlichem Ausgang der nekrotisierende Fasziiitis waren im Vergleich zu den Überlebenden bei Aufnahme die Serumspiegel für Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-1-Rezeptorantagonist, Interleukin-18 und Interferon- $\gamma$ , sowie die Anzahl der Blutleukozyten signifikant erhöht. Interleukin-1-Rezeptorantagonist und Leukozytenzahl waren ebenso höher als bei den Patienten mit Zellulitis. Für Interleukin-6 und Interleukin-8 wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientengruppen gesehen.

Bei allen Patienten mit nekrotisierender Fasziiitis korrelierten die Serumspiegel für die Zytokine der Interleukin-1-Familie – Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-1 Rezeptor-Antagonist und Interleukin-18 –positiv mit der Anzahl der Leukozyten bei Aufnahme. Darüber

hinaus war bei Aufnahme die Infektion mit *Staph. aureus* in Patienten mit nekrotisierender Faszitis mit erhöhten Werten für Interleukin-1 $\beta$  und Interleukin-18 assoziiert.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass erhöhte Serumspiegel von Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-18, Interferon- $\gamma$  und insbesondere Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist mit tödlichem Ausgang der nekrotisierenden Faszitis assoziiert sind. Die vorliegende Arbeit gibt Hinweise darauf, dass die Messung dieser Zytokine zu einer frühzeitigen Diagnosefindung und Abschätzung der Prognose bei nekrotisierender Faszitis beitragen könnte und daraus resultierend durch frühzeitige Einleitung einer aggressiven Therapie zu einer Verbesserung der Überlebensrate führt. Da der Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist sowohl eine Differenzierung zwischen den Überlebenden und den Verstorbenen mit nekrotisierender Faszitis, wie auch eine Unterscheidung zwischen Zellulitis und nekrotisierender Faszitis zulässt, sollte vor allem auf die Messung dieses Zytokins ein Hauptaugenmerk gelegt werden.

Solange noch keine schnelle, zuverlässige Methode zur Messung von Interleukin-1 Rezeptor-Antagonist verfügbar ist, sollte eine ausgeprägte Leukozytose ohne Fieber bei entsprechender klinischer Symptomatik den Verdacht auf nekrotisierende Faszitis lenken. In diesem Fall ist ein rasches operatives Vorgehen gerechtfertigt, um die Prognose des Patienten zu verbessern.



## 6 Literatur

Arend, W. P., Malyak, M., Guthridge, C. J., und Gabay, C. (1998). Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology. Annu Rev Immunol 16: 27-55.

Auron, P. E., Webb, A. C., Rosenwasser, L. J., Mucci, S. F., Rich, A., Wolff, S. M., und Dinarello, C. A. (1984). Nucleotide sequence of human monocyte interleukin 1 precursor cDNA. Proc Natl Acad Sci U S A 81: 7907-7911.

Balavoine, J. F., de Rochemonteix, B., Williamson, K., Seckinger, P., Cruchaud, A., und Dayer, J. M. (1986). Prostaglandin E2 and collagenase production by fibroblasts and synovial cells is regulated by urine-derived human interleukin 1 and inhibitor(s). J Clin Invest 78: 1120-1124.

Billiau, A., und Vandebroek, K. (2001). Cytokine Reference. In Cytokine Reference, J. J. Oppenheim, and M. Feldmann, eds. (St. Louis, MO, Elsevier Science), pp. 641-688.

Bilton, B. D., Zibari, G. B., McMillan, R. W., Aultman, D. F., Dunn, G., und McDonald, J. C. (1998). Aggressive surgical management of necrotizing fasciitis serves to decrease mortality: a retrospective study. Am Surg 64: 397-400; discussion 400-391.

Black, R. A., Kronheim, S. R., Cantrell, M., Deeley, M. C., March, C. J., Prickett, K. S., Wignall, J., Conlon, P. J., Cosman, D., Hopp, T. P., und et al. (1988). Generation of biologically active interleukin-1 beta by proteolytic cleavage of the inactive precursor. J Biol Chem 263: 9437-9442.

Blackburn, G. F., Shah, H. P., Kenten, J. H., Leland, J., Kamin, R. A., Link, J., Peterman, J., Powell, M. J., Shah, A., Talley, D. B., und et al. (1991). Electrochemiluminescence detection for development of immunoassays and DNA probe assays for clinical diagnostics. Clin Chem 37: 1534-1539.

Bosshardt, T. L., Henderson, V. J., und Organ, C. H., Jr. (1996). Necrotizing soft-tissue infections. Arch Surg 131: 846-852; discussion 852-844.

Brennan, F. M., Zachariae, C. O., Chantry, D., Larsen, C. G., Turner, M., Maini, R. N., Matsushima, K., und Feldmann, M. (1990). Detection of interleukin 8 biological activity in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis and production of interleukin 8 mRNA by isolated synovial cells. Eur J Immunol 20: 2141-2144.

Bresnihan, B., Alvaro-Gracia, J. M., Cobby, M., Doherty, M., Domljan, Z., Emery, P., Nuki, G., Pavelka, K., Rau, R., Rozman, B., Watt, I., Williams, B., Aitchison, R., McCabe, D., und Musikic, P. (1998). Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. Arthritis Rheum 41: 2196-2204.

Brothers, T. E., Tagge, D. U., Stutley, J. E., Conway, W. F., Del Schutte, H., Jr., und Byrne, T. K. (1998). Magnetic resonance imaging differentiates between necrotizing and non- necrotizing fasciitis of the lower extremity. J Am Coll Surg 187: 416-421.

- Brunkhorst, F. M., Karzai, W., und Reinhart, K. (2002). [Diagnostic approach to sepsis - state of the art]. Zentralbl Chir 127: 165-173.
- Calandra, T., Gerain, J., Heumann, D., Baumgartner, J. D., und Glauser, M. P. (1991). High circulating levels of interleukin-6 in patients with septic shock: evolution during sepsis, prognostic value, and interplay with other cytokines. The Swiss-Dutch J5 Immunoglobulin Study Group. Am J Med 91: 23-29.
- Cannon, J. G., Tompkins, R. G., Gelfand, J. A., Michie, H. R., Stanford, G. G., van der Meer, J. W., Endres, S., Lonnemann, G., Corsetti, J., Chernow, B., und et al. (1990). Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. J Infect Dis 161: 79-84.
- Casali, R. E., Tucker, W. E., Petrino, R. A., Westbrook, K. C., und Read, R. C. (1980). Postoperative necrotizing fasciitis of the abdominal wall. Am J Surg 140: 787-790.
- Casey, L. C., Balk, R. A., und Bone, R. C. (1993). Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. Ann Intern Med 119: 771-778.
- Childers, B. J., Potyondy, L. D., Nachreiner, R., Rogers, F. R., Childers, E. R., Oberg, K. C., Hendricks, D. L., und Hardesty, R. A. (2002). Necrotizing fasciitis: a fourteen-year retrospective study of 163 consecutive patients. Am Surg 68: 109-116.
- Coeshott, C., Ohnemus, C., Pilyavskaya, A., Ross, S., Wieczorek, M., Kroona, H., Leimer, A. H., und Cheronis, J. (1999). Converting enzyme-independent release of tumor necrosis factor alpha and IL-1beta from a stimulated human monocytic cell line in the presence of activated neutrophils or purified proteinase 3. Proc Natl Acad Sci U S A 96: 6261-6266.
- Cunningham, J. D., Silver, L., und Rudikoff, D. (2001). Necrotizing fasciitis: a plea for early diagnosis and treatment. Mt Sinai J Med 68: 253-261.
- Dayer, J. M., Graham, R., Russell, G., und Krane, S. M. (1977). Collagenase production by rheumatoid synovial cells: stimulation by a human lymphocyte factor. Science 195: 181-183.
- Deaver, D. R. (1995). A new non-isotopic detection system for immunoassays. Nature 377: 758-760.
- Dinarello, C. A. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood 87: 2095-2147.
- Dinarello, C. A. (1997). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. Chest 112: 321S-329S.
- Dinarello, C. A., und Cannon, J. G. (1993). Cytokine measurements in septic shock. Ann Intern Med 119: 853-854.
- Dinarello, C. A., und Moldawer, L. L. (2002). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in Rheumatoid Arthritis, 3 edn (Thousand Oaks, Amgen Inc.).

- Dinareello, C. A., und Wolff, S. M. (1977). Partial purification of human leukocytic pyrogen. Inflammation 2: 179-189.
- Drake, D. B., Woods, J. A., Bill, T. J., Kesser, B. W., Wenger, M. A., Neal, J. G., und Edlich, R. F. (1998). Magnetic resonance imaging in the early diagnosis of group A beta streptococcal necrotizing fasciitis: a case report. J Emerg Med 16: 403-407.
- Eisenberg, S. P., Evans, R. J., Arend, W. P., Verderber, E., Brewer, M. T., Hannum, C. H., und Thompson, R. C. (1990). Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. Nature 343: 341-346.
- Elliott, D. C., Kufera, J. A., und Myers, R. A. (1996). Necrotizing soft tissue infections. Risk factors for mortality and strategies for management. Ann Surg 224: 672-683.
- Engel, A., Mack, E., Kern, P., und Kern, W. V. (1998). An analysis of interleukin-8, interleukin-6 and C-reactive protein serum concentrations to predict fever, gram-negative bacteremia and complicated infection in neutropenic cancer patients. Infection 26: 213-221.
- Engervall, P., Andersson, B., und Bjorkholm, M. (1995). Clinical significance of serum cytokine patterns during start of fever in patients with neutropenia. Br J Haematol 91: 838-845.
- Falcoff, R. (1972). Some properties of virus and immune-induced human lymphocyte interferons. J Gen Virol 16: 251-253.
- Fantuzzi, G., Ku, G., Harding, M. W., Livingston, D. J., Sipe, J. D., Kuida, K., Flavell, R. A., und Dinareello, C. A. (1997). Response to local inflammation of IL-1 beta-converting enzyme-deficient mice. J Immunol 158: 1818-1824.
- Feezor, R. J., Oberholzer, C., Baker, H. V., Novick, D., Rubinstein, M., Moldawer, L. L., Pribble, J., Souza, S., Dinareello, C. A., Ertel, W., und Oberholzer, A. (2003). Molecular characterization of the acute inflammatory response to infections with gram-negative versus gram-positive bacteria. Infect Immun 71: 5803-5813.
- Finegold, S. M. (1980). Anaerobic infections. Surg Clin North Am 60: 49-64.
- Francis, K. R., Lamaute, H. R., Davis, J. M., und Pizzi, W. F. (1993). Implications of risk factors in necrotizing fasciitis. Am Surg 59: 304-308.
- Fustes-Morales, A., Gutierrez-Castrellon, P., Duran-Mckinster, C., Orozco-Covarrubias, L., Tamayo-Sanchez, L., und Ruiz-Maldonado, R. (2002). Necrotizing fasciitis: report of 39 pediatric cases. Arch Dermatol 138: 893-899.
- Gardella, S., Andrei, C., Costigliolo, S., Poggi, A., Zocchi, M. R., und Rubartelli, A. (1999). Interleukin-18 synthesis and secretion by dendritic cells are modulated by interaction with antigen-specific T cells. J Leukoc Biol 66: 237-241.

- Gardlund, B., Sjolín, J., Nilsson, A., Roll, M., Wickerts, C. J., und Wretlind, B. (1995). Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans: correlation with disease severity. J Infect Dis 172: 296-301.
- Ghayur, T., Banerjee, S., Hugunin, M., Butler, D., Herzog, L., Carter, A., Quintal, L., Sekut, L., Talanian, R., Paskind, M., Wong, W., Kamen, R., Tracey, D., und Allen, H. (1997). Caspase-1 processes IFN-gamma-inducing factor and regulates LPS-induced IFN-gamma production. Nature 386: 619-623.
- Gogos, C. A., Drosou, E., Bassaris, H. P., und Skoutelis, A. (2000). Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. J Infect Dis 181: 176-180.
- Gresser, I., und Nasify, K. (1964). Recovery of an interferon-like substance from cerebrospinal fluid. Proc Soc Exp Biol Med 117: 285-289.
- Grobmyer, S. R., Lin, E., Lowry, S. F., Rivadeneira, D. E., Potter, S., Barie, P. S., und Nathan, C. F. (2000). Elevation of IL-18 in human sepsis. J Clin Immunol 20: 212-215.
- Gu, Y., Kuida, K., Tsutsui, H., Ku, G., Hsiao, K., Fleming, M. A., Hayashi, N., Higashino, K., Okamura, H., Nakanishi, K., Kurimoto, M., Tanimoto, T., Flavell, R. A., Sato, V., Harding, M. W., Livingston, D. J., und Su, M. S. (1997). Activation of interferon-gamma inducing factor mediated by interleukin-1beta converting enzyme. Science 275: 206-209.
- Hack, C. E., Hart, M., van Schijndel, R. J., Eerenberg, A. J., Nuijens, J. H., Thijs, L. G., und Aarden, L. A. (1992). Interleukin-8 in sepsis: relation to shock and inflammatory mediators. Infect Immun 60: 2835-2842.
- Heitmann, C., Pelzer, M., Bickert, B., Menke, H., und Germann, G. (2001). [Surgical concepts and results in necrotizing fasciitis]. Chirurg 72: 168-173.
- Heney, D., Lewis, I. J., Evans, S. W., Banks, R., Bailey, C. C., und Whicher, J. T. (1992). Interleukin-6 and its relationship to C-reactive protein and fever in children with febrile neutropenia. J Infect Dis 165: 886-890.
- Hirano, T. (1998). Interleukin 6 and its receptor: ten years later. Int Rev Immunol 16: 249-284.
- Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, S., Nakajima, K., Koyama, K., Iwamatsu, A., und et al. (1986). Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. Nature 324: 73-76.
- Hoshino, T., Wiltrout, R. H., und Young, H. A. (1999). IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in NK and T cells: a new potential role for IL-18 in modulating the immune response. J Immunol 162: 5070-5077.
- Hsieh, W. S., Yang, P. H., Chao, H. C., und Lai, J. Y. (1999). Neonatal necrotizing fasciitis: a report of three cases and review of the literature. Pediatrics 103: e53.

- Hynninen, M., Valtonen, M., Vaara, M., Markkanen, H., Kuusela, P., Saxen, H., und Takkunen, O. (1995). Plasma endotoxin and cytokine levels in neutropenic and non-neutropenic bacteremic patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 14: 1039-1045.
- Iizasa, H., und Matsushima, K. (2001). Cytokine Reference. In Cytokine Reference, J. J. Oppenheim, and M. Feldmann, eds. (St. Louis, MO, Elsevier Science), pp. 1061-1067.
- Joosten, L. A., van De Loo, F. A., Lubberts, E., Helsen, M. M., Netea, M. G., van Der Meer, J. W., Dinarello, C. A., und van Den Berg, W. B. (2000). An IFN-gamma-independent proinflammatory role of IL-18 in murine streptococcal cell wall arthritis. J Immunol 165: 6553-6558.
- Kasai, T., Inada, K., Takakuwa, T., Yamada, Y., Inoue, Y., Shimamura, T., Taniguchi, S., Sato, S., Wakabayashi, G., und Endo, S. (1997). Anti-inflammatory cytokine levels in patients with septic shock. Res Commun Mol Pathol Pharmacol 98: 34-42.
- Kosloske, A. M., Cushing, A. H., Borden, T. A., Woodside, J. R., Klein, M. D., Kulasinghe, H. P., und Bailey, W. C. (1981). Cellulitis and necrotizing fasciitis of the abdominal wall in pediatric patients. J Pediatr Surg 16: 246-251.
- Kragsbjerg, P., Holmberg, H., und Vikerfors, T. (1996). Dynamics of blood cytokine concentrations in patients with bacteremic infections. Scand J Infect Dis 28: 391-398.
- Küster, H., Weiss, M., Willeitner, A. E., Detlefsen, S., Jeremias, I., Zbojan, J., Geiger, R., Lipowsky, G., und Simbruner, G. (1998). Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. Lancet 352: 1271-1277.
- Lacour, A. G., Gervaix, A., Zamora, S. A., Vadas, L., Lombard, P. R., Dayer, J. M., und Suter, S. (2001). Procalcitonin, IL-6, IL-8, IL-1 receptor antagonist and C-reactive protein as identifiers of serious bacterial infections in children with fever without localising signs. Eur J Pediatr 160: 95-100.
- Larsen, C. G., Anderson, A. O., Appella, E., Oppenheim, J. J., und Matsushima, K. (1989). The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for T-lymphocytes. Science 243: 1464-1466.
- Lewis, R. T. (1998). Soft tissue infections. World J Surg 22: 146-151.
- Lin, K. J., Lin, J., Hanasawa, K., Tani, T., und Kodama, M. (2000). Interleukin-8 as a predictor of the severity of bacteremia and infectious disease. Shock 14: 95-100.
- Majeski, J., und Majeski, E. (1997). Necrotizing fasciitis: improved survival with early recognition by tissue biopsy and aggressive surgical treatment. South Med J 90: 1065-1068.
- Mandell, G. L., Bennett, J. E., und Dolin, R. (1995). Principles and Practice of Infectious Diseases, 4 edn (New York, Churchill Livingstone Inc.).

- Mandi, Y., Farkas, G., Takacs, T., Boda, K., and Lonovics, J. (2000). Diagnostic relevance of procalcitonin, IL-6, and sICAM-1 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis. Int J Pancreatol 28: 41-49.
- Marty, C., Misset, B., Tamion, F., Fitting, C., Carlet, J., and Cavaillon, J. M. (1994). Circulating interleukin-8 concentrations in patients with multiple organ failure of septic and nonseptic origin. Crit Care Med 22: 673-679.
- Matsushima, K., Morishita, K., Yoshimura, T., Lavu, S., Kobayashi, Y., Lew, W., Appella, E., Kung, H. F., Leonard, E. J., and Oppenheim, J. J. (1988). Molecular cloning of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. J Exp Med 167: 1883-1893.
- McHenry, C. R., Piotrowski, J. J., Petrinic, D., and Malangoni, M. A. (1995). Determinants of mortality for necrotizing soft-tissue infections. Ann Surg 221: 558-563.
- Merriman, C. R., Pulliam, L. A., and Kampschmidt, R. F. (1977). Comparison of leukocytic pyrogen and leukocytic endogenous mediator. Proc Soc Exp Biol Med 154: 224-227.
- Mileno, M. D., Margolis, N. H., Clark, B. D., Dinarello, C. A., Burke, J. F., and Gelfand, J. A. (1995). Coagulation of whole blood stimulates interleukin-1 beta gene expression. J Infect Dis 172: 308-311.
- Murphy, P. A., Chesney, P. J., and Wood, W. B., Jr. (1974). Further purification of rabbit leukocyte pyrogen. J Lab Clin Med 83: 310-322.
- Nakamura, K., Okamura, H., Wada, M., Nagata, K., and Tamura, T. (1989). Endotoxin-induced serum factor that stimulates gamma interferon production. Infect Immun 57: 590-595.
- Norrby-Teglund, A., Chatellier, S., Low, D. E., McGeer, A., Green, K., and Kotb, M. (2000). Host variation in cytokine responses to superantigens determine the severity of invasive group A streptococcal infection. Eur J Immunol 30: 3247-3255.
- Norrby-Teglund, A., Thulin, P., Gan, B. S., Kotb, M., McGeer, A., Andersson, J., and Low, D. E. (2001). Evidence for superantigen involvement in severe group A streptococcal tissue infections. J Infect Dis 184: 853-860.
- Novick, D., Kim, S. H., Fantuzzi, G., Reznikov, L. L., Dinarello, C. A., and Rubinstein, M. (1999). Interleukin-18 binding protein: a novel modulator of the Th1 cytokine response. Immunity 10: 127-136.
- Novick, D., Schwartsburd, B., Pinkus, R., Suissa, D., Belzer, I., Stoeber, Z., Keane, W. F., Chvatchko, Y., Kim, S. H., Fantuzzi, G., Dinarello, C. A., and Rubinstein, M. (2001). A novel IL-18BP ELISA shows elevated serum IL-18BP in sepsis and extensive decrease of free IL-18. Cytokine 14: 334-342.

- Oberholzer, A., Harter, L., Feilner, A., Steckholzer, U., Trentz, O., und Ertel, W. (2000). Differential effect of caspase inhibition on proinflammatory cytokine release in septic patients. Shock 14: 253-257; discussion 257-258.
- Oberholzer, A., Oberholzer, C., Feezor, R., Probble, J., Souza, S., Dinarello, C. A., Ertel, W., und Moldawer, L. L. (2002). Patterns of cytokine expression differentiate between gram positive and gram negative sepsis. Surgical Infections 3: 73 (Abstract).
- Okamura, H., Nagata, K., Komatsu, T., Tanimoto, T., Nukata, Y., Tanabe, F., Akita, K., Torigoe, K., Okura, T., Fukuda, S., und et al. (1995a). A novel costimulatory factor for gamma interferon induction found in the livers of mice causes endotoxic shock. Infect Immun 63: 3966-3972.
- Okamura, H., Tsutsi, H., Komatsu, T., Yutsudo, M., Hakura, A., Tanimoto, T., Torigoe, K., Okura, T., Nukada, Y., Hattori, K., und et al. (1995b). Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. Nature 378: 88-91.
- Pessa, M. E., und Howard, R. J. (1985). Necrotizing fasciitis. Surg Gynecol Obstet 161: 357-361.
- Puren, A. J., Fantuzzi, G., und Dinarello, C. A. (1999). Gene expression, synthesis, and secretion of interleukin 18 and interleukin 1beta are differentially regulated in human blood mononuclear cells and mouse spleen cells. Proc Natl Acad Sci U S A 96: 2256-2261.
- Riseman, J. A., Zamboni, W. A., Curtis, A., Graham, D. R., Konrad, H. R., und Ross, D. S. (1990). Hyperbaric oxygen therapy for necrotizing fasciitis reduces mortality and the need for debridements. Surgery 108: 847-850.
- Rogy, M. A., Coyle, S. M., Oldenburg, H. S., Rock, C. S., Barie, P. S., Van Zee, K. J., Smith, C. G., Moldawer, L. L., und Lowry, S. F. (1994). Persistently elevated soluble tumor necrosis factor receptor and interleukin-1 receptor antagonist levels in critically ill patients. J Am Coll Surg 178: 132-138.
- Ryan, C. A., Fischer, J., Gayle, M., und Wenman, W. (1993). Surgical and postoperative management of two neonates with necrotizing fasciitis. Can J Surg 36: 337-341.
- Schroder, J., Staubach, K. H., Zabel, P., Stuber, F., und Kremer, B. (1999). Procalcitonin as a marker of severity in septic shock. Langenbecks Arch Surg 384: 33-38.
- Schroder, J. M., und Christophers, E. (1986). Identification of C5ades arg and an anionic neutrophil-activating peptide (ANAP) in psoriatic scales. J Invest Dermatol 87: 53-58.
- Seckinger, P., Lowenthal, J. W., Williamson, K., Dayer, J. M., und MacDonald, H. R. (1987). A urine inhibitor of interleukin 1 activity that blocks ligand binding. J Immunol 139: 1546-1549.

Shapiro, L., und Dinarello, C. A. (1997). Hyperosmotic stress as a stimulant for proinflammatory cytokine production. Exp Cell Res 231: 354-362.

Sharma, M., Khatib, R., und Fakih, M. (2002). Clinical characteristics of necrotizing fasciitis caused by group G Streptococcus: case report and review of the literature. Scand J Infect Dis 34: 468-471.

Siegmund, B. (2002). Interleukin-1beta converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation. Biochem Pharmacol 64: 1-8.

Simpson, A. J., Smith, M. D., Weverling, G. J., Suputtamongkol, Y., Angus, B. J., Chaowagul, W., White, N. J., van Deventer, S. J., und Prins, J. M. (2000). Prognostic value of cytokine concentrations (tumor necrosis factor- alpha, interleukin-6, and interleukin-10) and clinical parameters in severe melioidosis. J Infect Dis 181: 621-625.

Singh, G., Ray, P., Sinha, S. K., Adhikary, S., und Khanna, S. K. (1996). Bacteriology of necrotizing infections of soft tissues. Aust N Z J Surg 66: 747-750.

Soker, M., Colpan, L., Ece, A., Devecioglu, C., und Haspolat, K. (2001). Serum levels of IL-1 beta, sIL-2R, IL-6, IL-8, and TNF-alpha in febrile children with cancer and neutropenia. Med Oncol 18: 51-57.

Steinmetz, H. T., Herbertz, A., Bertram, M., und Diehl, V. (1995). Increase in interleukin-6 serum level preceding fever in granulocytopenia and correlation with death from sepsis. J Infect Dis 171: 225-228.

Stewart, W. E. (1980). Interferon nomenclature recommendations. J Infect Dis 142: 643.

Sudarsky, L. A., Laschinger, J. C., Coppa, G. F., und Spencer, F. C. (1987). Improved results from a standardized approach in treating patients with necrotizing fasciitis. Ann Surg 206: 661-665.

Swartz, M. N. (1995). Principles and Practice of Infectious Diseases. In Bennett, J. E., G. L. Mandell, ed. (Dolin, R., Churchill Livingstone), pp. 923-925.

van der Poll, T. (2001). Immunotherapy of sepsis. Lancet Infect Dis 1: 165-174.

Waage, A., und Aasen, A. O. (1992). Different role of cytokine mediators in septic shock related to meningococcal disease and surgery/polytrauma. Immunol Rev 127: 221-230.

Wheelock, E. F. (1965). Interferon-like virus inhibitor induced in human leukocytes by phytohemagglutinin. Science 141: 300-311.

Wilson, B. L. (1952). Necrotizing Fasciitis. Am Surg 18: 416-431.

Wilson, H. D., und Haltalin, K. C. (1973). Acute necrotizing fasciitis in childhood. Report of 11 cases. Am J Dis Child 125: 591-595.



Yoshimura, T., Matsushima, K., Tanaka, S., Robinson, E. A., Appella, E., Oppenheim, J. J., und Leonard, E. J. (1987). Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. Proc Natl Acad Sci U S A 84: 9233-9237.

Youngner, J. S., und Salvin, S. B. (1973). Production and properties of migration inhibitory factor and interferon in the circulation of mice with delayed hypersensitivity. J Immunol 111: 1914-1922.

## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich bedanken. Mein besonderer Dank gilt:

- Herrn Prof. Dr. Stefan Endres für seine Unterstützung bei der Planung der Versuche sowie für seine wertvollen Ratschläge bei der Anfertigung des Manuskriptes.
- Herrn Prof. Charles Dinarello für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit meine Dissertation unter hervorragenden Bedingungen und einer sehr angenehmen Arbeitsatmosphäre in seinem Labor anfertigen zu können.
- Frau Dr. med. Britta Siegmund für die nette produktive Zusammenarbeit im Labor, die zahlreichen Diskussionen, und vor allem die kritische Durchsicht des Manuskriptes.
- Herrn PD Dr. med. Philip Bufler für sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit, seine Ratschläge und unermüdliche Diskussionsbereitschaft.
- Herrn Robert Rodriguez MD für die Bereitstellung der Studiendaten.
- Frau Giamila Fantuzzi PhD, Frau Tania Azam, Herrn Leonid Reznikov PhD und Herrn Soo Hyun Kim PhD für die freundschaftliche und produktive Zusammenarbeit im Labor.

## Veröffentlichungen und Kongressbeiträge

### Originalarbeiten

Lungstras-Bufler, K., Bufler, P., Abdullah, R., Rutherford, C., Endres, S., Abraham, E., Dinarello, C.A. und Rodriguez, R.M. (2004). High cytokine levels at admission are associated with fatal outcome in patients with necrotizing fasciitis. Eur Cytokine Netw 15(2): 135-138.

Rodriguez, R., Lungstras-Bufler, K., Abdullah, R., Bufler, P., Barry, L., Dinarello, C. A. und Abraham, E. (2004). Characterization of the inflammatory response in necrotizing fasciitis. Am J Emerg Med 24: 58-61.

### Abstracts & Poster

Lungstras-Bufler, K., Bufler, P., Rutherford, C., Abdullah, R., Abraham, E., Dinarello, C.A. und Rodriguez, R. (2002) High cytokine levels at admission are associated with fatal outcome in patients with necrotizing fasciitis. Poster presentation at the Cytokine and Interferons Conference 2002, Turin, Italy October 2002.

Rodriguez, R., Abdullah, R., Miller, R., Barry, L., Lungstras-Bufler, K., Bufler, P., Dinarello, C. A. und Abraham, E. (2002) Characterization of the Inflammatory Response in Necrotizing Fasciitis. Poster presentation at the Annual Meeting of the American College of Emergency Physicians 2002, Seattle, USA October 2002.

**Curriculum vitae****Kathrin Lungstras-Bufler****Persönliche Daten**

Name	Kathrin Lungstras-Bufler, geb.: Lungstras
Geburtsdatum	13. September 1966
Geburtsort	Hiltrup
Familienstand	verheiratet mit Philip Bufler drei Söhne

**Schulbildung**

1972 – 1976	Grundschule Bonn-Venusberg
1976 – 1985	Clara-Schumann-Gymnasium in Bonn
Mai 1985	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife

**Berufsausbildung**

1985 – 1987	Ausbildung zur Pharmazeutisch-technischen-Assistentin an der Lehranstalt für Pharmazeutisch-technische-Assistenten (PTA) in Bonn-Bad Godesberg
August 1987- September 1988	Tätigkeit als PTA, Schildhorn-Apotheke, Berlin-Steglitz

**Studium**

1988 – 1995	Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität Marburg und an der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU)
Oktober 1995	3. Staatsexamen

**Beruf**

April 1996 – Nov. 1997	Ärztin im Praktikum im Krankenhaus Dritter Orden in München, Abteilung Anästhesiologie und Intensivmedizin
Nov. 1997 – Febr. 1998	Assistenzärztin im Krankenhaus Dritter Orden in München, Abteilung Anästhesiologie und Intensivmedizin
April 1998 – Dez. 1999	Assistenzärztin in der Schön- Klinik in München, Abteilung Anästhesiologie und Intensivmedizin
Seit Januar 2000	Erziehungsurlaub

**Wissenschaftliche Tätigkeit:**

Jan. 2001 – April 2003	Aufenthalt in Denver, Colorado, USA  Durchführung des experimentellen Teils der Doktorarbeit im Labor von Prof. Charles A. Dinarello an der University of Colorado Health Sciences Center in Denver, Colorado
------------------------	---