

Klinik für Innere Medizin II – Gastroenterologie und Endokrinologie  
Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert

**NOD2-Risikovarianten haben unterschiedliche  
Effekte auf bakterielle Infektionen im  
kompensierten und dekompenzierten Stadium der  
Leberzirrhose**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes  
2020

Vorgelegt von Edith Vandieken  
Geboren am 29.12.1993 in Straubing

Promotionstag: 19.08.2021  
Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger  
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert  
Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Volk  
Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Sören Leif Becker

## Inhalt

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung/Summary</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>3</b>
2.1	Leberzirrhose .....	3
2.1.1	Definition.....	3
2.1.2	Epidemiologie und Ätiologie.....	3
2.1.3	Stadien der Leberzirrhose.....	4
2.1.4	Komplikationen .....	5
2.1.5	Progression innerhalb der Stadien.....	6
2.1.6	Diagnostik.....	7
2.1.7	Prognose .....	9
2.2	Leberzirrhose und Infektionen .....	10
2.3	<i>NOD2</i> .....	11
2.3.1	Pattern-recognition-Rezeptoren .....	11
2.3.2	<i>NOD2</i> .....	11
2.3.3	Aufbau .....	11
2.3.4	Funktion.....	12
2.3.5	Polymorphismen .....	12
2.4	Ziel der Arbeit.....	13
<b>3</b>	<b>Patienten und Methodik</b> .....	<b>14</b>
3.1	Patientenkollektiv .....	14
3.2	<i>NOD2</i> -Genotypisierung .....	15
3.2.1	Probengewinnung und DNA-Extraktion.....	15
3.2.2	Quantitative real-time PCR (Taqman).....	17
3.2.3	Sequenzen der Assays .....	19
3.2.4	Material.....	19
3.3	Klinisch-chemische Parameter .....	21
3.4	Dekompensation .....	21
3.5	Portale Hypertension.....	22
3.6	Bakterielle Infektionen.....	22
3.7	Statistische Analyse .....	23
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>25</b>
4.1	Gesamtkollektiv.....	25
4.2	Patientenkollektive Homburg und Halle .....	31
4.3	Bakterielle Infektion und <i>NOD2</i> -Mutation.....	33

---

4.3.1	Bakterielle Infektionen bei kompensierten Patienten .....	37
4.3.2	Bakterielle Infektionen bei dekompenzierten Patienten .....	40
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>43</b>
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse .....	43
5.2	Studienlage zu bakteriellen Infektionen bei <i>NOD2</i> -Mutation bei Leberzirrhose .....	43
5.2.1	Nicht-SBP-Infektionen und <i>NOD2</i> .....	43
5.2.2	SBP und <i>NOD2</i> .....	44
5.3	Kompensierte und dekompenzierte Zirrhose: Grundsätzlich verschiedene Stadien der Leberzirrhose .....	45
5.4	Bedeutung von bakteriellen Infektionen und systemischer Inflammation für die Prognose der Leberzirrhose .....	46
5.5	Limitationen der Studie .....	48
5.6	Zusammenfassung und Ausblick .....	49
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>Publikation .....</b>	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>59</b>

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b>	West Haven-Klassifikation der HE .....	6
<b>Tabelle 2</b>	Child-Pugh-Score .....	9
<b>Tabelle 3</b>	Laborparameter (zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses).....	21
<b>Tabelle 4</b>	Laborwerte des Gesamtkollektivs .....	27
<b>Tabelle 5</b>	Child-Pugh-Score, Gesamtkollektiv .....	27
<b>Tabelle 6</b>	Vergleich der Prävalenz der drei <i>NOD2</i> -Mutationen in unserer Kohorte mit der Prävalenz in der ExAC-Datenbank .....	29
<b>Tabelle 7</b>	Bakterielle Infektionen im Gesamtkollektiv.....	30
<b>Tabelle 8</b>	Sonstige Infektionen im Gesamtkollektiv .....	30
<b>Tabelle 9</b>	Vergleich der Baseline-Daten der Kohorten von Homburg und Halle .....	32
<b>Tabelle 10</b>	Assoziation einer <i>NOD2</i> -Mutation (Vorhandensein einer der drei Varianten) mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte).....	34
<b>Tabelle 11</b>	Assoziation der Variante p.R702W mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte).....	34
<b>Tabelle 12</b>	Assoziation der Variante p.G908R mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte).....	35
<b>Tabelle 13</b>	Assoziation der Variante c.3020insC mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte).....	35
<b>Tabelle 14</b>	Assoziation einer <i>NOD2</i> -Mutation mit bakteriellen Infektionen bei dekompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte) .....	36
<b>Tabelle 15</b>	Assoziation einer <i>NOD2</i> -Mutation mit bakteriellen Infektionen bei kompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte) .....	36
<b>Tabelle 16</b>	Univariate Analyse der Prädiktoren bakterieller Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte) .....	38
<b>Tabelle 17</b>	Multivariate Analyse zur Bestimmung unabhängiger Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose .....	38
<b>Tabelle 18</b>	Vergleich der Patienten mit und ohne vorhandene CSPH- Einschätzung (Mittelwert und Standardabweichung) .....	39
<b>Tabelle 19</b>	Multivariate Analyse zur Bestimmung unabhängiger Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und vorhandener CSPH-Einschätzung.....	40
<b>Tabelle 20</b>	Univariate Prädiktoren der bakteriellen Infektionen bei dekompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte).....	41

<b>Tabelle 21</b>	Multivariate Analyse zur Bestimmung unabhängiger Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte).....	42
<b>Tabelle 22</b>	Vergleich der Arbeit von Dinya et al. mit der vorliegenden Studie.....	44

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b>	a: mikroskopisch: Leberzirrhose (Azan-Färbung). Das Leberparenchym ist mit fibrotischen Septen (blau) durchzogen. b: makroskopisch: Bild einer mikronodulären Leberzirrhose .....	3
<b>Abbildung 2</b>	Aufbau des <i>NOD2</i> -Proteins .....	12
<b>Abbildung 3</b>	A: Spinsäule (rechts) mit 2 ml Auffangröhrchen (links) (QIAmp DNA Mini Kit), B: Spinsäule und Auffangröhrchen zusammengesetzt .....	16
<b>Abbildung 4</b>	Ein- und Ausschluss von Patienten in die Studie, Flussdiagramm.....	25
<b>Abbildung 5</b>	Ätiologie der Leberzirrhose im Gesamtkollektiv .....	26
<b>Abbildung 6</b>	Child Pugh Score, Stadien.....	28
<b>Abbildung 7</b>	Verteilung der <i>NOD2</i> -Varianten (p.R702W, c3020insC und p.G908R) im Gesamtkollektiv .....	29
<b>Abbildung 8</b>	Alter der Patienten der Kohorten aus Homburg und Halle, p=0.78.....	32
<b>Abbildung 9</b>	Punkte im MELD-Score in den Kohorten aus Homburg und Halle, p=0.002 .....	33
<b>Abbildung 10</b>	Schematische Darstellung zur Progression von pathophysiologischen Mechanismen, hämodynamischen und klinischen Ausprägungen der Leberzirrhose im Verlauf der Erkrankung .....	47

## Formelverzeichnis

<b>Formel 1</b>	LSPS-Score.....	8
<b>Formel 2</b>	MELD-Score.....	10

**Abkürzungsverzeichnis**

ACLF	Akut-auf-chronisches Leberversagen (Acute-on-chronic-liver-failure)
AIC	Akaike-Informationskriterium
AIH	Autoimmunhepatitis
ALAT	Alaninaminotransferase
AP	alkalische Phosphatase
ASAT	Aspartataminotransferase
BCLC-Klassifikation	Barcelona Clinic Liver Cancer-Klassifikation
BIC	Bayessches Informationskriterium
BT	Bakterielle Translokation
cAIC	Korrigiertes Akaike-Informationskriterium
CAID	Zirrhose-assoziierte Immundysfunktion (Cirrhosis associated immune dysfunction)
CARD	Caspase-Aktivierungs-und-Rekrutierungs-Domäne
CFF	Flimmerfrequenz-Analyse (Critical flicker frequency)
CO	Herzzeitvolumen (cardiac output)
CSPH	klinisch signifikante portale Hypertension (clinical significant portal hypertension)
ExAC	Exome Aggregation Consortium
FHVP	Freier Lebervenenendruck (Free hepatic venous pressure)
GGT	$\gamma$ -Glutamyltransferase
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HE	hepatische Enzephalopathie
HRS	hepatorenales Syndrom
HVPG	Hepatisch venöser Druckgradient (Hepatic venous pressure gradient)
IL-6	Interleukin 6
INR	Internationale normalisierte Ratio
IQR	Interquartilsabstand
LSPS	Lebersteifigkeit-Milzgröße-Thrombozytenanzahl-Score (Liver Stiffness-Spleensize-Platelet count-Score)
MAPK	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MBG	Minor-Groove-Binder
MDP	Muramyl-Dipeptid

---

MELD	Modell der Lebererkrankung im Endstadium (Model of end stage liver disease)
NADFLD	Nicht-alkoholische-Fettlebererkrankung (Non-alcoholic fatty liver disease)
NLR	NOD-ähnlicher-Rezeptor (NOD-like-receptor)
NOD	Nukleotid-bindende-Oligomerisierungsdomäne
OR	Odds Ratio
PAMP	Pathogen-assoziierte-molekulare-Muster
PAVH	Periphere arterielle Vasodilatations-Hypothese
PBC	primär biliäre Cholangitis
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PRR	Mustererkennungs-Rezeptoren (Pattern-recognition-receptors)
PSC	primär sklerosierende Cholangitis
SAV	viszerale arterielle Vasodilatation (splanchnic arterial vasodilatation)
SD	Standardabweichung (standard deviation)
SIH	Systemische-Inflamations-Hypothese
SBP	spontane bakterielle Peritonitis
TLR	Toll-ähnliche Rezeptoren (Toll-like-receptors)
TNF	Tumornekrosefaktor
WHVP	Lebervenenverschlussdruck (wedged hepatic venous pressure)
95% KI	95%-Konfidenzintervall

## 1 Zusammenfassung/Summary

Verschiedene Varianten des *NOD2*-Gens (nucleotide-binding oligomerization domain) wurden mit spontan bakterieller Peritonitis und Mortalität bei Leberzirrhose assoziiert. In der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob Mutationen im *NOD2*-Gen das Risiko für bakterielle Infektionen bei kompensierter und dekomensierter Leberzirrhose stadienabhängig erhöhen.

Eingeschlossen wurden Patienten mit Leberzirrhose, die sowohl ambulant als auch stationär in den Universitätskliniken Homburg oder Halle behandelt wurden. Es erfolgte die Genotypisierung für die *NOD2*-Mutationen p.R702W, p.G908R und c3020insC. Retrospektiv wurden digitale Patientenakten (SAP-Computersystem) auf frühere sowie zum Studieneinschluss bestehende hepatische Dekompensation sowie bakterielle Infektionen überprüft. Eine hepatische Dekompensation war definiert durch das Auftreten einer Ösophagusvarizenblutung, hepatischen Enzephalopathie, Aszites und/oder Ikterus. Klinisch signifikante portale Hypertension wurde durch die Lebersteifigkeit und/oder die Lebervenenverschlussdruckmessung festgestellt.

Insgesamt wurden 750 Patienten in die Studie eingeschlossen (65% Männer, Interquartilsabstand 53-68 Jahre). Die Zirrhose war überwiegend alkoholischer Genese (n = 415, 55%). Die meisten Patienten waren im dekomensierten Stadium (n = 544, 73%). Eine *NOD2*-Mutation war bei 164 Patienten (22%) nachweisbar. Bakterielle Infektionen wurden in 278 Fällen (37%) festgestellt. *NOD2*-Varianten waren assoziiert mit bakteriellen Infektionen (Odds Ratio = 1.64, P = 0.004). Bemerkenswerterweise zeigte sich bei kompensierten Patienten eine stärkere Assoziation von *NOD2*-Varianten mit bakteriellen Infektionen als bei dekomensierten Patienten. Bei kompensierten Patienten war die Kombination einer *NOD2*-Variante und klinisch signifikanter portaler Hypertension der beste unabhängige Prädiktor bakterieller Infektionen, während bei dekomensierten Patienten verschiedene Faktoren, wie das Vorhandensein einer *NOD2*-Risikovariante, die Milzgröße, Hämoglobin-Spiegel und Dekompensation wie hepatische Enzephalopathie oder Ikterus, relevant waren.

Zusammenfassend untermauern die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass das Vorhandensein einer der *NOD2*-Varianten ein zusätzlicher Faktor für die Entwicklung von bakteriellen Infektionen in allen Stadien der Leberzirrhose ist. In unserer Analyse konnte dies insbesondere bei der kompensierten Leberzirrhose nachgewiesen werden. Weitere Studien zur Identifikation von Biomarkern und Entwicklung von frühen Interventionsstrategien sind notwendig.

## Summary

An association of common nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (*NOD2*) gene variants with spontaneous bacterial peritonitis and mortality in cirrhosis was found. The aim of this study was to investigate whether mutations in the *NOD2* gene increase the risk of bacterial infection in compensated and decompensated liver cirrhosis.

Patients with cirrhosis were prospectively included in two academic medical centers. Genotyping was performed for the *NOD2* mutations p.R702W, p.G908R and c3020insC. Electronic medical records were retrospectively screened for bacterial infections (requiring antibiotic therapy) and past and present decompensation (as defined by ascites, hepatic encephalopathy, esophageal variceal bleeding, and/or jaundice). Clinically significant portal hypertension was detected by hepatic venous pressure gradient measurements and/or liver stiffness-spleensize-platelet-count-score.

A total of 750 patients were enrolled (men 65%, interquartile age range 53-68 years). Cirrhosis was predominantly alcoholic (n = 415, 55%). 544 patients were in the decompensated stage (73%). A *NOD2* risk variant was detectable in 164 patients (22%). Bacterial infections were found in 278 patients (37%), and *NOD2* variants were associated with bacterial infections (odds ratio = 1.64, p = 0.004). Of note, *NOD2* variants showed a stronger association to bacterial infections in compensated than in decompensated patients. In compensated patients, the combination of *NOD2* variants and clinically significant portal hypertension was the most accurate independent predictor of bacterial infections, while in decompensated patients, various factors (including *NOD2*, spleen size, hemoglobin and decompensation such as hepatic encephalopathy or jaundice) were relevant.

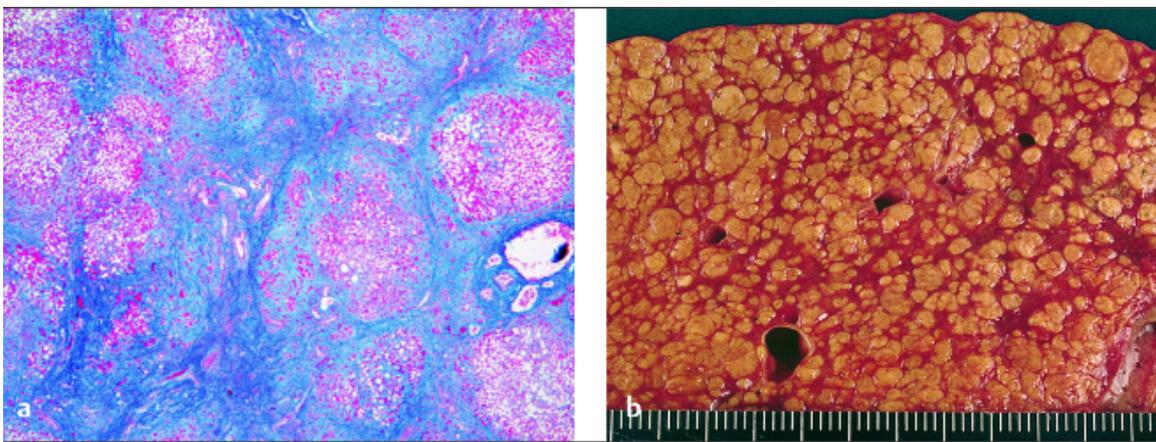
In conclusion, we demonstrated an association of *NOD2* risk variants with bacterial infections in cirrhosis, showing stronger association in compensated than in decompensated patients. Further studies are needed to identify biomarkers and develop early intervention strategies for high risk patients with cirrhosis.

## 2 Einleitung

### 2.1 Leberzirrhose

#### 2.1.1 Definition

Die Leberzirrhose entsteht durch verschiedene Mechanismen der chronischen Schädigung des Leberparenchyms, die zu einer entzündlichen Fibrose führen. Histologisch ist diese durch diffuse Regeneratknoten gekennzeichnet, die von dichten fibrotischen Septen umgeben sind. So kommt es durch einen Einbruch der Läppchenstruktur des Leberparenchyms auch zu einer Verzerrung der Gefäßstruktur (1,2). Die Folgen bei fortgeschrittener Leberzirrhose sind Leberinsuffizienz, portale Hypertension und Ausbildung intrahepatischer porto-systemischer Shunts (3).



**Abbildung 1** a: mikroskopisch: Leberzirrhose (Azan-Färbung). Das Leberparenchym ist mit fibrotischen Septen (blau) durchzogen (4).  
b: makroskopisch: Bild einer mikronodulären Leberzirrhose (5).

#### 2.1.2 Epidemiologie und Ätiologie

Nach Einschätzung der WHO aus den Jahren 2000 bis 2002 ist die Leberzirrhose für 170.000 Tote jährlich in Europa (6) und 1,03 Millionen Tote weltweit (7) verantwortlich. In einer Arbeit von Scaglione et al. (2015) beträgt die Prävalenz der Leberzirrhose in den USA 0,27%, was 633.323 Personen entspricht (8). Die Prävalenz ist jedoch schwierig abzuschätzen, da durch das asymptomatische Initialstadium von einer hohen Dunkelziffer auszugehen ist (2).

Die häufigste Ursache in Deutschland stellt der chronische Alkoholabusus dar (55%) (9), darauf folgen Virushepatitiden (40%), hier die chronische Hepatitis C und B. Weltweit sind Virushepatitiden die häufigste Ursache für eine Leberzirrhose (2). Des Weiteren kann eine nicht alkoholische Fettlebererkrankung (non alcoholic fatty liver disease, NAFLD) durch Lipidakkumulation in Kombination mit zusätzliche Faktoren, wie freien Fettsäuren, inflammatorischen Zytokinen oder oxidativem Stress (10), zur Zirrhose

führen. Die Diagnose erfolgt bei Nachweis einer hepatischen Steatose durch Bildgebung oder Histologie sowie durch den Ausschluss sekundärer Ursachen für eine Fettakkumulation in der Leber, beispielsweise durch übermäßigen Alkoholkonsum, eine autoimmune Hepatitis (AIH) oder erbliche Störungen (11).

Auch die Autoimmunhepatitis (AIH), die primär biliäre Cholangitis (PBC) sowie die primär sklerosierende Cholangitis (PSC) sind Autoimmunerkrankungen, die als Spätfolge zur Leberzirrhose führen können. Eine AIH kann als akute Hepatitis beginnen und zu chronischer Hepatitis und Leberzirrhose fortschreiten, die Ursache ist unklar (12). Charakterisiert ist die Erkrankung durch zirkulierende Autoantikörper und erhöhte Immunglobulin-Spiegel (IgG) (13). Bei der PBC kommt es durch eine mutmaßlich immunvermittelte chronische Destruktion der kleinen intrahepatischen Gallengänge zu einer Leberzirrhose, da toxische Substanzen nicht mehr über die Galle ausgeschieden werden können (14). Bei der PSC sind die genauen Mechanismen von Ätiologie und Pathogenese noch weitgehend unklar (15). Ätiologisch wird am ehesten von einer autoimmunen Genese ausgegangen (16). Über eine chronische Entzündung der Gallenwege (intra- und extrahepatisch) kommt es zu deren Sklerosierung, was zu Cholestase und im Spätstadium zur Zirrhose führt (15,17). Des Weiteren sind seltene Stoffwechselerkrankungen wie die Hämochromatose oder ein Morbus Wilson mögliche Ursachen einer Leberzirrhose. Ätiologisch liegt der Hämochromatose in 90% der Fälle eine homozygote C282Y-Mutation im HFE-Gen auf Chromosom 6 zugrunde. Dies führt zu einer erhöhten Eisenresorption und infolgedessen zu Eisenablagerung in verschiedenen Organen, beispielsweise in der Leber (18). Bei Morbus Wilson ist die biliäre Kupferausscheidung durch einen Defekt des ATP7B-Proteins reduziert und das Kupfer akkumuliert infolgedessen in der Leber und anderen Organen (19,20).

### **2.1.3 Stadien der Leberzirrhose**

Der natürliche Verlauf der Leberzirrhose wird in vier Stadien unterteilt. Grundsätzlich wird eine asymptomatische, kompensierte Phase von einer symptomatischen, dekompenzierten Phase unterschieden (21–23). Bei den kompensierten Stadien wird nach dem Vorhandensein von Ösophagusvarizen unterteilt, wobei Stadium 1 durch die Abwesenheit von Ösophagusvarizen abgegrenzt wird und Stadium 2 durch die Präsenz dieser bei fehlendem Aszites und nicht stattgehabter Ösophagusvarizenblutung (22).

Reicht die Funktion der Leber nicht mehr aus, ihre physiologischen Aufgaben zu erfüllen, kommt es zur Dekompensation. Definiert ist diese durch das Auftreten von Aszites, Varizenblutung, Ikterus und/oder einer hepatischen Enzephalopathie (22,24,25), wobei Aszites (mit oder ohne Ösophagusvarizen) Stadium 3 definiert und eine Ösophagusvarizenblutung (mit oder ohne Aszites) Stadium 4 (22).

### 2.1.4 Komplikationen

Komplikationen der Leberzirrhose, die zur Dekompensation führen, lassen sich unterteilen in durch die portale Hypertension bedingte Komplikationen und solche, die durch eine verminderte Stoffwechsel- und Entgiftungsfunktion entstehen (22).

Durch die portale Hypertension bedingt ist einerseits die Splenomegalie, die durch Blutrückstau in die Milz entsteht und durch einen Längsdurchmesser der Milz von mehr als 14 cm definiert ist (26,27). Andererseits entstehen Ösophagusvarizen, die Kollateralkreisläufe vom portalen zum kavalen System darstellen. Bei Ruptur dieser kommt es zur Ösophagusvarizenblutung (28).

Aszites, eine Ansammlung seröser Flüssigkeit in der Peritonealhöhle, entsteht sowohl durch den erhöhten portalen Druck als auch durch eine verminderte Syntheseleistung der Leber. So führt eine geringere Albuminsynthese zum Abfall des kolloidosmotischen Drucks. Dadurch kommt es zu einer Erhöhung der Gefäßpermeabilität und Wasser tritt in den extrazellulären Raum aus (29).

Durch die hepatozelluläre Funktionsstörung kann bei vermindertem Bilirubinabbau ein Ikterus entstehen, der durch einen Anstieg des Bilirubins auf über 3 mg/dl oder einen Anstieg um 3 mg/dl definiert ist (24,30). Die verminderte Entgiftungsfunktion der Leber kann zu einer hepatischen Enzephalopathie (HE) führen. Diese entsteht durch Anreicherung neurotoxischer Stoffe wie Ammoniak,  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA) oder Mercaptane, die im Darm resorbiert, aber nicht mehr über die Leber abgebaut werden können. So kann sich das neuropsychiatrische Syndrom der HE mit einer reversibel eingeschränkten Funktion des Gehirns entwickeln, deren Ausprägungen je nach Schweregrad von leichten Konzentrationsstörungen und Schläfrigkeit bis hin zum Koma reichen (31). Tabelle 1 zeigt die Symptome der HE nach der West-Haven-Klassifikation (31,32).

<i>Grad der HE</i>	<i>Mögliche Symptome</i>
Grad I	Euphorie, Beklemmung, leichte Einschränkung der Wahrnehmung, veränderter Schlafrhythmus, verkürzte Aufmerksamkeitsspanne
Grad II	Lethargie, Apathie, vorübergehende Verwirrtheit, offensichtliche Veränderung der Persönlichkeit, unangebrachtes Verhalten, Dyspraxie

Grad III	Somnolenz bis Semi-Stupor, weiterhin Reaktion auf Ansprache, schwerwiegender Orientierungsverlust, Verwirrtheit, skurriles Verhalten
Grad IV	Koma

**Tabelle 1** West Haven-Klassifikation der HE (31,32)

Eine weitere Spätfolge der Leberzirrhose kann ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) sein. Dies ist bei Männern die fünfthäufigste Krebserkrankung, bei Frauen die siebthäufigste, weltweit mit bis heute schlechter Prognose (33). Eine vorbestehende Leberzirrhose ist der Hauptrisikofaktor für ein HCC. Die Einteilung des HCC erfolgt nach der Barcelona-Clinic-Liver-Cancer-Klassifikation (BCLC-Klassifikation), die die verschiedenen Aspekte der Erkrankung berücksichtigt. In die Klassifikation gehen der allgemeine Gesundheitszustand des Patienten, der Grad der Lebererkrankung sowie die Größe und Ausdehnung des Tumors ein (34).

### 2.1.5 Progression innerhalb der Stadien

Zur Progression innerhalb der Stadien kommt es einerseits durch die Folgen der zunehmenden zirrhotischen Veränderung des Lebergewebes (22). Diese können, wie oben beschrieben, sowohl durch die portale Hypertension als auch durch eine eingeschränkte Stoffwechsel- und Entgiftungsleistung bedingt sein (22).

Einen weiteren Faktor, der wesentlich zum Voranschreiten der Erkrankung und dem häufigeren Auftreten von Komplikationen führt, stellen bakterielle Infektionen dar (35). Diese spielen eine wichtige Rolle im natürlichen Verlauf der Leberzirrhose. So sind bakterielle Infektionen und Dekompensation insofern eng miteinander verbunden, dass es bei bakteriellen Infektionen vermehrt zur Dekompensation kommt und andererseits eine Dekompensation, wie zum Beispiel eine Varizenblutung, zur vermehrten Entwicklung von bakteriellen Infektionen beitragen kann (36–38). Bakterielle Infektionen sind einer der häufigsten Gründe für eine Krankenhausaufnahme bei Leberzirrhose und stellen eine der Hauptursachen der erhöhten Mortalität bei Zirrhosepatienten dar (39). So zeigt eine Übersichtsarbeit von Arvaniti et al. eine vierfache Erhöhung der Mortalität durch bakterielle Infektionen bei Zirrhose-Patienten. Eingeschlossen wurden Studien über den klinischen Verlauf der Leberzirrhose nach bakterieller Infektion mit Erfassung der Todesfälle oder einer Ereigniszeitanalyse (35). In einer Arbeit von Dionigi et al. zeigte sich nach stattgehabter bakterieller Infektion eine Beeinflussung des Überlebens unabhängig vom Stadium der zugrundeliegenden Lebererkrankung (37). So stellen bakterielle Infektionen nach Dionigi et al. ein eigenständiges prognostisches Stadium der Leberzirrhose dar (37).

## 2.1.6 Diagnostik

Durch das geschädigte Leberparenchym können im Labor erhöhte Leberenzyme [ASAT (Aspartataminotransferase) und ALAT (Alaninaminotransferase)] sowie eine Erhöhung der Cholestaseparameter [AP (alkalische Phosphatase),  $\gamma$ -GT ( $\gamma$ -Glutamyltransferase)] auffallen. Werte im Referenzbereich schließen eine Leberschädigung aber nicht aus (40–44). Die bei dekompensierter Leberzirrhose verschlechterte Leberfunktion kann zu erhöhten Ammoniak- und Bilirubinwerten führen. Des Weiteren können durch die verminderte Synthese in der Leber Gesamteiweiß und Albumin erniedrigt sein (45). Die Gerinnung kann dadurch ebenfalls gestört sein, was sich durch einen erhöhten INR-Wert sowie entsprechend einen erniedrigten Quick-Wert zeigt (45).

Der Beurteilung der Beschaffenheit der Leber erfolgt sonographisch oder mittels transientser Elastographie (2). In der Sonographie zeigt sich eine Leberzirrhose beispielsweise durch ein inhomogen erscheinendes Parenchym, einen abgerundeten Leberwinkel, eine verplumpte Organform oder eine unebene Oberfläche, eine Zirrhose im Frühstadium ergibt jedoch sonographisch häufig auch einen unauffälligen Befund (46–48). Außerdem ist die Abdomen-Sonographie bei der Bestimmung der Milzgröße zur Diagnose einer Splenomegalie von Bedeutung. Gemessen wird der Längsdurchmesser von Pol zu Pol im Milzhilus (46). Die Sonographie des Abdomens dient auch zur möglichen Feststellung von Aszites.

Mit Hilfe der transienten Elastographie (Lebersteifigkeitsmessung, z.B. Fibroscan®) lässt sich der Fibrosegrad der Leber bestimmen. Durch die Bestimmung der Geschwindigkeit einer niederfrequenten Ultraschallwelle kann die Steifigkeit der Leber berechnet werden. Diese wird in Kilopascal (kPa) angegeben. Ab einem Wert von 7 kPa spricht man von signifikanter Fibrose, ab 12,5 kPa von Zirrhose (49). Dieser Wert hängt auch von der Art der Leberschädigung ab. So fallen die Werte bei alkoholischer Zirrhose höher aus als bei anderen chronischen Lebererkrankungen (50,51). Trabut et al. führen dies auf Inflammation bei anhaltendem Alkoholkonsum sowie erhöhten Portalvenenfluss zurück (52). Zudem wird in einer Übersichtsarbeit von Pavlov et al. dargestellt, dass bei erhöhten Transaminasen, insbesondere AST, höhere Werte in der Lebersteifigkeitsmessung auftreten, sodass in der Studie auch angepasste Testtrennwerte je nach AST-Wert diskutiert werden (51). Zur Sicherung der Qualität der Messung wird zusätzlich die Erfolgsrate angegeben. Diese sollte für eine transiente Elastographie bei über 60% liegen, was bedeutet, dass 60% der Messungen erfolgreich gewesen sein sollten. Zudem wird der Interquartilsabstand (IQR) bestimmt, der die Variabilität der gültigen Messergebnisse widerspiegelt. Der IQR ist ein Streuungsparameter, der den Abstand zwischen oberem und unterem Quartil, in dem 50% der erhobenen Werte liegen, angibt (53). Der IQR sollte unter 30% des Wertes der

ermittelten Leberdichte liegen. Dann ist von einem validen Ergebnis auszugehen (54,55).

Die portale Hypertension kann durch einen erhöhten portosystemischen Druckgradienten (HVPG) diagnostiziert werden (56). Dieser stellt die Differenz zwischen dem Lebervenenverschlussdruck (WHVP, Wedge-Druck) und dem freien Lebervenenenddruck (FHVP) dar. Von portaler Hypertension ist ab einem Wert von 6mmHg auszugehen (57). Von klinisch signifikanter portaler Hypertension (CSPH) mit der Ausbildung von Ösophagusvarizen spricht man ab einem Wert von 10mmHg (58). Ein klinisch signifikantes Blutungsrisiko besteht ab 12mmHg (59,60).

Eine nicht invasive Methode zur Bestimmung der portalen Hypertension ist der Liver Stiffness-Spleensize-Platelet count-Score (LSPS). Die Berechnung erfolgt durch eine Multiplikation der Werte der Lebersteifigkeit (kPa) und der Milzgröße (cm, Ultraschall) und einer darauffolgenden Division des Ergebnisses durch die Thrombozytenzahl (1000/ml) (61). Bei Werten über 2,65 liegt nach Abraldes et al. ein Risiko von mehr als 80% für eine CSPH vor (62).

$$\frac{\text{Lebersteifigkeit (kPa)} \times \text{Milzgröße (cm)}}{\text{Thrombozytenanzahl (1000/ml)}}$$

**Formel 1** LSPS-Score (61)

Die Diagnose und Therapie der Ösophagus-Varizen erfolgt anhand der Baveno-Kriterien (56,63). Diese sind Ergebnis von seit 1986 sechs Konferenzen von Vertretern von Zentren für portale Hypertension aus Europa, den USA und Kanada und beinhalten unter anderem Konsensus-Kriterien zu folgenden Unterpunkten: Indikation für eine Screening-Gastroskopie auf Ösophagusvarizen, Einsatz von Nicht-selektiven-beta-Blockern (NSBB) sowie antibiotische Prophylaxe, Transfusion und HE-Prävention bei Ösophagusvarizenblutung (27, 70).

Bei Verdacht auf eine HE, beispielsweise aufgrund erhöhter Ammoniakwerte, kann eine Flimmerfrequenz-Analyse (critical flicker frequency, CFF) durchgeführt werden. Der angegebene Wert ist die Frequenz (Hz) von Lichtreizen, die schnell wiederholt dargeboten werden, bei der der Patient die Lichtreize nicht mehr flimmernd, sondern als kontinuierliches Licht wahrnimmt (64). Patienten mit HE hatten bei Kircheis et al. sowie bei Romero-Gómez et al. signifikant niedrigere Werte als Patienten ohne eine diagnostizierte HE. Als Cut off-Wert geben die Studien Werte von unter 38 Hz bis 39 Hz an (65,66). Voraussetzung für die Durchführung und gültige Messergebnisse sind eine intakte binokulare Wahrnehmung sowie kein Vorliegen einer Rotgrünblindheit (32).

### 2.1.7 Prognose

Nach D'Amico et al. liegt die 5-Jahres-Mortalität bei kompensierter Zirrhose ohne Ösophagusvarizen bei 1,5%, sind Ösophagusvarizen vorhanden bereits bei 10% (67). Bei dekompensierter Leberzirrhose nimmt die 5-Jahres-Mortalität bei einem Dekompensations-Ereignis deutlich auf Werte zwischen 20 und 30% zu. Ab einem zweiten Dekompensationsereignis steigt die 5-Jahres-Mortalität nach D'Amico et al. auf 88% an (67). Zur genaueren Berechnung der Prognose werden der Child-Pugh (CPS)- oder Model of end-stage-liver-disease (MELD)-Score verwendet. Der CPS wurde durch Child 1964 veröffentlicht und 1973 durch Pugh modifiziert (68,69). Folgende Parameter gehen je nach Ausprägung mit 1-3 Punkten ein: Grad der hepatischen Enzephalopathie (HE), Aszites in der Sonographie, Quick (%), Bilirubin (mg/dl) und Serumalbumin (g/dl). Es gibt drei Stadien, die mit einer unterschiedlichen 1-Jahresüberlebensrate vergesellschaftet sind: Child A (5-6 Punkte, 1-Jahres-Überlebensrate: 100%), Child B (7-9 Punkte, 1-Jahres-Überlebensrate: etwa 85%), Child C (10-15 Punkte, 1 Jahres-Überlebensrate: etwa 35%) (68,69).

<i>Parameter</i>	<i>Einheit</i>	<i>1 Punkt</i>	<i>2 Punkte</i>	<i>3 Punkte</i>
Serum-Bilirubin	mg/dl	< 2.0	2.0-3.0	> 3.0
Serum-Albumin	g/dl	> 3.5	2.8-3.5	< 2.8
Quick	%	> 70	40-70	< 40
Aszites (Sonographie)	-	keiner	leicht	mittelgradig
HE	-	keine	Stadium I-II	Stadium III-IV
Child A: 5-6 Punkte				
Child B: 7-9 Punkte				
Child C: 10-15 Punkte				

**Tabelle 2** Child-Pugh-Score (68,69)

Der MELD-Score wurde erstmals im Jahr 2001 publiziert (70). Initial wurde der Score zur Ermittlung der Mortalität nach Einlage eines transjugulären intrahepatischen portosystemischen Shunts zur Behandlung von Komplikationen portaler Hypertension eingeführt (71) und dann für die Organ-Allokation bei der Lebertransplantation modifiziert (70,72). Der MELD-Score gibt die 3-Monatsmortalität an (72) und wird aus Kreatinin (mg/dl), Bilirubin (mg/dl) und INR (international normalized ratio) berechnet (70). Der Minimalwert für alle Variablen ist 1. Übersteigt der Kreatinin-Wert 4 mg/dl, geht dieser weiterhin mit 4 mg/dl in die Formel ein. Wurde in der Woche vor MELD-Score-Erhebung eine Dialyse durchgeführt, wird der Kreatinin-Wert auf 4 mg/dl gesetzt (73).

Die errechneten Werte liegen zwischen 6 und 40. Je höher der Wert ist, desto schlechter ist die Prognose (70). So beträgt die 3-Monats-Mortalität bei Patienten mit einem MELD-Score 10 Punkten 2%, wobei diese bei einem Wert von 40 bei 71,3% liegt (72).

$$10 \times [0,957 \times \text{Log}_e (\text{Kreatinin mg/dl}) + 0,378 \times \text{Log}_e (\text{Bilirubin mg/dl}) + 1,120 \times \text{Log}_e (\text{INR}) + 0,643]$$

**Formel 2** MELD-Score (73)

## 2.2 Leberzirrhose und Infektionen

Patienten mit Leberzirrhose haben einerseits ein erhöhtes Risiko, eine bakterielle Infektion zu entwickeln, wobei bei dekompensierter Zirrhose deutlich mehr bakterielle Infektionen auftreten als bei kompensierter Zirrhose (74). Andererseits ist auch deren Prognose schlechter als bei vielen anderen Patienten ohne Leberzirrhose (35). Die häufigsten bakteriellen Infektionen bei Leberzirrhose-Patienten stellen die spontan-bakterielle Peritonitis (SBP) und Harnwegsinfekte dar. Bis zu 30% der mit Aszites hospitalisierten Patienten weisen eine SBP auf (75). Etwas seltener treten Pneumonien auf. Diese sind allerdings bei Patienten mit Aszites mit erhöhter Mortalität vergesellschaftet (76). Darauf folgen spontane Bakteriämien sowie Weichteilinfektionen (39).

Verschiedene Faktoren begünstigen das Auftreten von bakteriellen Infektionen bei Leberzirrhose. So findet bei Zirrhose-Patienten eine vermehrte bakterielle Translokation statt (77). Die bakterielle Translokation beschreibt den Übergang von Bakterien sowie bakteriellen Produkten wie Lipopolysacchariden oder Peptidoglykanen aus dem Gastrointestinaltrakt über mesenteriale Lymphknoten in den systemischen Kreislauf (78). Dies ist ein physiologischer Vorgang, der eine entscheidende Rolle für die Immunität spielt. Bei Leberzirrhose kommt es allerdings durch eine stetige Steigerung der bakteriellen Translokation zu "pathologischer", vermehrter bakterieller Translokation. Ursachen der gesteigerten bakteriellen Translokation stellen sowohl die portale Hypertension als auch die fortschreitende Lebersyntheseinsuffizienz dar (79). Nach Wiest et al. findet im kompensierten Stadium der Zirrhose eine Translokation bakterieller Produkte statt, während es im dekompensierten Stadium auch zur Translokation lebensfähiger Bakterien kommt (80). Die bakterielle Translokation ist auch entscheidend an der Entwicklung von Komplikationen wie einer SBP oder spontanen Bakteriämie beteiligt (77,80–83).

Außerdem trägt die Leber maßgeblich zur Funktion des Immunsystems bei (84). Beispiele dafür sind die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber sowie die Verhinderung der systemischen Ausbreitung von mikrobiellen und diätischen Antigenen,

die über den Darm ins Blut gelangen (85). So kommt es mit dem Fortschreiten des Schweregrads der Zirrhose auch zu einer verschlechterten Funktion des Immunsystems, zu der sogenannten Zirrhose-assoziierten-Immundefizienz (cirrhosis associated immune dysfunction, CAID). Diese beschreibt eine Immundefizienz, bei der sowohl die humorale und die zelluläre Abwehr betroffen ist (35). Zudem besteht eine systemische Entzündung durch anhaltende Überstimulation der Immunzellen, deren Folge erhöhte Serumkonzentrationen proinflammatorischer Zytokine sind (85).

## **2.3 NOD2**

### **2.3.1 Pattern-recognition-Rezeptoren**

Pattern-recognition-Rezeptoren (PRRs) sind ein wesentlicher Bestandteil des angeborenen Immunsystems. Diese Rezeptoren sind auf Immunzellen zu finden und spielen eine wichtige Rolle bei der Abwehr von Infektionen. Es gibt drei Hauptgruppen: NLR (NOD-like-receptors) sind zytoplasmatische Rezeptoren. Daneben gibt es TLR (Toll-like-receptors), die als Transmembran-Proteine Pathogene extrazellulär erkennen können (86). Die dritte Gruppe stellen die RIG-1 (retinoid-acid-inducible-gene 1-like receptors) dar. Diese erkennen vor allem Viren (87). Erkannt werden molekulare Muster von Pathogenen (PAMPs: pathogen-associated molecular patterns). Dadurch kommt es zur Aktivierung von verschiedenen Signalwegen, beispielsweise NF- $\kappa$ B, die dann wiederum zu einer Abwehrreaktion führen (88).

### **2.3.2 NOD2**

Die NLR-Familie besteht aus 22 verschiedenen Proteinen. Eines davon ist das NOD2-Protein (nucleotide-binding oligomerization domain), das im Jahr 2000 durch Ogura et al. charakterisiert wurde und durch das *NOD2*-Gen, das auf Chromosom 16 lokalisiert ist und sich über 12 Exons ausdehnt (89), kodiert wird. Exprimiert wird das NOD2-Protein von Makrophagen (90).

Es erkennt das Muramyl-Dipeptid (MDP), ein Fragment des Peptidoglykans, intrazellulär. Das MDP ist ein Bestandteil der Zellwand sowohl von gramnegativen als auch von grampositiven Bakterien. Wird *NOD2* durch die Bindung von MDP stimuliert, kommt es zur Aktivierung verschiedener Signalwege, insbesondere von NF- $\kappa$ B und Mitogen-aktivierter Proteinkinase (MAPK) (91).

### **2.3.3 Aufbau**

NLRs weisen drei Domänen auf. Sowohl bei NOD2 als auch bei den anderen NLR-Subtypen befindet sich am C-terminalen Ende die LRR-Domäne (Leucine rich repeat). Daran kann MDP binden. Zusätzlich verhindert diese die Dimerisierung des NOD2-

Proteins in Abwesenheit von MDP. Zentral findet sich die nucleotide-binding-oligomerization-domain (NOD), die auch die nucleotide-binding-domain (NBD) enthält (92).

Durch unterschiedliche N-terminale Enden lassen sich bei NLRs vier Subtypen unterscheiden: Bei NOD2 ist am N-terminalen Ende die caspase-activation and recruitment domain (CARD) lokalisiert. Diese vermittelt intrazelluläre Signalübertragung nach Interaktion von LRR und MDP (92). Im Gegensatz zu NOD1 besitzt NOD2 zwei CARD-Domänen (89).



**Abbildung 2** Aufbau des NOD2-Proteins (86)

### 2.3.4 Funktion

Bekannt ist, dass die Bindung von MDP an NOD2 den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B aktiviert (89). Dadurch kommt es zu einer vermehrten Transkription und Produktion von Entzündungsmediatoren, beispielsweise Zytokinen wie TNF (Tumornekrosefaktor) und IL-6 (Interleukin 6) sowie von Adhäsionsmolekülen. Ein ähnliches Ergebnis erzielt die Aktivierung von MAPK (88).

NOD2 bereitet zudem auch die adaptive Immunantwort vor und ist ein Schlüsselfaktor der Immunabwehr durch TH2-Helferzellen (93).

Außerdem konnte bei NOD2-Defizienz eine mikrobielle Dysbiose im Darm und auch eine erhöhte intestinale Permeabilität beobachtet werden (94). Mikrobielle Dysbiose beschreibt eine pathologische Veränderung des Mikrobioms mit vermehrt potentiell pathogenen Bakterien, eine einheitliche Definition gibt es derzeit nicht (95). So wird diese bei Bajaj et al. durch eine Reduktion der autochthonen mikrobiellen Gruppen beschrieben (96). Lin et al hingegen definieren eine Dysbiose durch eine erhöhte Firmicutes/Bacteroidetes Ratio (97).

### 2.3.5 Polymorphismen

Die hier untersuchten Polymorphismen sind die häufigsten Mutationen des *NOD2*-Gens, namentlich p.R702W (rs2066844), p.G908R (rs2066845) und c3020insC (rs2066847), daneben existieren zahlreiche, deutlich seltenere *NOD2*-Varianten (98,99). Die Varianten entstehen durch eine Veränderung in der LRR-Domäne und erkennen das

MDP nicht so gut wie der Wildtyp (98). Bei den Mutationen p.R702W und p.G908R handelt es sich um Missense-Varianten (100), bei denen ein verändertes Codon für eine andere Aminosäure in der LRR-Domäne kodiert (101). Die Mutation c3020insC ist eine Frameshift-Mutation (99), bei der es durch Leserasterverschiebung zur Kodierung für eine andere Aminosäure kommt (101). In der Allgemeinbevölkerung tragen 3,49% die Mutation p.R702W, 1,54% die Mutation p.G908R und 2,02% die Mutation c3020insC (102).

Im Jahr 2001 von Hugot et al. entdeckt und bisher am besten untersucht ist eine Assoziation dieser *NOD2*-Varianten mit Morbus Crohn (103), die bei heterozygoten Trägern mit einem 3-fach erhöhtem Risiko einhergeht. Bei homozygoten Trägern steigt das Risiko um mehr als das 20-fache (100). Durch eine unzureichende Immunantwort gegenüber den Darmbakterien kommt es zu einer quantitativen und qualitativen Veränderung des Mikrobioms, was wahrscheinlich wiederum zu einer Entzündungsreaktion an der Lamina propria des Darmlumens führt (104). Strober et al. ziehen auch die Möglichkeit in Betracht, dass eine immunmodulatorische Funktion des *NOD2*-Gens bei einer *NOD2*-Defizienz zu einer Entzündungsreaktion führen kann (104). Appenrodt et al. konnten 2010 zeigen, dass eine SBP bei Vorhandensein einer der *NOD2*-Varianten häufiger auftritt und das Überleben der Träger der Varianten reduziert war (105). Das vermehrte Auftreten der SBP bei *NOD2*-Varianten konnte auch in einer Arbeit von Bruns et al. bestätigt werden. In die Studie wurden 175 Patienten, die bei dekompenzierter Leberzirrhose einer diagnostischen Aszitespunktion unterzogen wurden, prospektiv eingeschlossen. Es zeigte sich ein erhöhtes Risiko für eine kulturpositive SBP bei Patientin mit *NOD2*-Mutation (106). Daneben liegt eine Assoziation bei der Graft-versus-host-Reaktion (107) sowie beim Blau-Syndrom vor (108).

## 2.4 Ziel der Arbeit

Aufgrund der Bedeutung von bakteriellen Infektionen für den Verlauf und das Überleben von Patienten mit Leberzirrhose soll in der vorliegenden Arbeit in einer großen Kohorte untersucht werden, ob das Vorhandensein einer der Varianten des *NOD2*-Gens mit vermehrtem Auftreten von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit Leberzirrhose assoziiert ist.

Wie oben beschrieben unterscheiden sich die Stadien der Leberzirrhose in Bezug auf das Auftreten sowie die Prognose von bakteriellen Infektionen deutlich voneinander. Deshalb sollen die Stadien der kompensierten und dekompenzierten Leberzirrhose im Vergleich betrachtet werden.

Dazu erfolgte die Genotypisierung für die drei Mutationen pR702W, pG908R und c3020insC sowie die retrospektive Dokumentation des Verlaufs der Zirrhose und des Auftretens von bakteriellen Infektionen.

### 3 Patienten und Methodik

#### 3.1 Patientenkollektiv

Eingeschlossen wurden 750 Patienten mit Leberzirrhose im Zeitraum von Februar 2014 bis Februar 2017. Diese wurden sowohl ambulant als auch stationär in den Universitätskliniken Homburg (N=534) oder Halle (N=216) behandelt. Es wurden nur Patientin kaukasischer Ethnizität ohne schwere Begleiterkrankungen wie terminale Herzinsuffizienz, HIV-Infektion oder fortgeschrittene Krebserkrankung eingeschlossen. Die Leberzirrhose wurde nach aktueller Empfehlung entweder mittels Biopsie, einem Wert größer 13 kPa in der Lebersteifigkeitsmessung oder durch eine Kombination aus klinischen, chemisch-klinischen, sonographischen sowie endoskopischen Befunden diagnostiziert (1,2,40).

Die Genotypisierung erfolgte für die Patienten aus Homburg im Rahmen des Präscreenings der multizentrischen INCA-Studie (Impact of *NOD2* genotype-guided antibiotic prevention on survival in patients with liver cirrhosis and ascites; EudraCT 2013-001626-26) (109) und für Teilnehmer der LHOMfor-Studie (Identifikation von Seromarkern, mikrobiologischen Mustern und genetischen Risikofaktoren für die Entstehung und Progression chronischer Lebererkrankungen) für die *NOD2*-Mutationen p.R702W, p.G908R und c3020insC. Die Patienten vom Universitätsklinikum Halle wurden ebenfalls im Zuge des Präscreenings für die INCA-Studie genotypisiert. Die INCA-Studie ist eine prospektive, randomisierte, doppelblinde Studie, in die Patienten mit Leberzirrhose, Aszites sowie mindestens einer der drei *NOD2*-Risikovarianten eingeschlossen werden. Die zentrale Fragestellung ist die Auswirkung einer antibiotischen Primärprophylaxe mit Norfloxacin auf den Krankheitsverlauf, wobei den Patienten über 12 Monate einmal täglich entweder Norfloxacin 400mg oder ein Placebo verabreicht wird (109).

Alle Teilnehmer der Studie oder deren gesetzliche Vertreter erhielten die Informationen zur Studie schriftlich und stimmten der Teilnahme zu.

Retrospektiv wurden aus den digitalen Patientenakten (SAP-Computersystem) frühere sowie zum Studieneinschluss bestehende hepatische Dekompensation, bakterielle Infektionen, Vorhandensein von Diabetes Mellitus Typ 2, verschiedene Laborparameter sowie die Ergebnisse der apparativen Untersuchungen wie transientser Elastographie, Flimmerfrequenzanalyse und sonographischer Messung der Milzgröße dokumentiert.

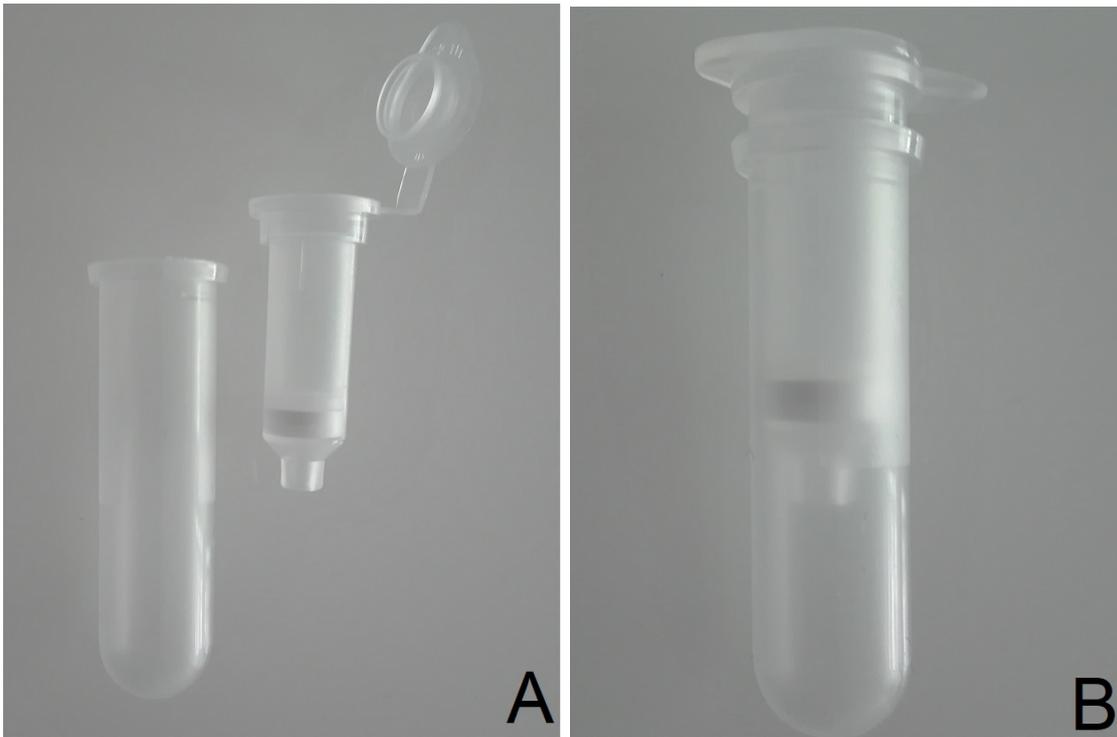
## 3.2 *NOD2*-Genotypisierung

### 3.2.1 Probengewinnung und DNA-Extraktion

Für die DNA-Isolierung und weitere Labordiagnostik erfolgte eine Blutentnahme bei allen Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden. Das Blut für die DNA-Isolierung wurde in je zwei Serum- und EDTA (Vollblut)-Röhrchen entnommen. Im Forschungslabor der Klinik für Innere Medizin II (Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg) wurden die Serum-Röhrchen zentrifugiert. Der Überstand wurde bei -70°C für weitere Diagnostik gelagert.

Die Isolierung der DNA erfolgte aus dem EDTA-Blut mithilfe eines Membran-basierten Extraktions-Sets (Quiagen, Hilden, Deutschland) nach dem im Folgenden erläuterten Spin-Protokoll aus dem „QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook“ (110). Die Arbeitsschritte wurden unter einem Abzug unter sterilen Bedingungen durchgeführt.

Auf den Boden eines 1,5 ml-Mikrozentrifugenröhrchens wurden 20 ml Protease (Quiagen) gegeben. Es wurden dann 200 µl der jeweiligen Blutprobe und darauffolgend 200 µl Puffer AL hinzugefügt. Mit einem Vortexmischer wurde der Ansatz 15 Sekunden lang vermischt und anschließend im Thermomixer (Eppendorf) bei 56°C 10 Minuten lang inkubiert. Zur Entfernung von Tröpfchen im Deckel des Röhrchens und zur Vermeidung von Kontamination beim Öffnen wurde der Ansatz 5 Sekunden lang bei 8000 Umdrehungen pro Minute (U/min) zentrifugiert. Im nächsten Schritt wurden 200 µl Ethanol (99%) dazugegeben. Daraufhin wurde der Ansatz wieder mittels Vortexmischer 15 Sekunden lang vermischt und danach 5 Sekunden lang bei 8000 U/min zentrifugiert. Im Anschluss wurde die Mixtur in eine zuvor beschriftete Spin-Säule mit einem 2 ml Auffangröhrchen (QIAamp DNA Mini Kit) gefüllt und nach Verschließen der Spin-Säule für eine Minute bei 8000 U/min zentrifugiert. Die Spin-Säule wurde dann in einem neuen 2 ml-Auffangröhrchen platziert. Je 500 µl Puffer AW1 wurden in die Spin-Säule hinzugegeben, erneut wurde bei 8000 U/min eine Minute lang zentrifugiert. Daraufhin wurde nochmals ein neues 2 ml-Auffangröhrchen verwendet, 500 µl Puffer AW2 in die Spin-Säule gegeben und schließlich bei 13000 U/min 3 Minuten lang zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Platzierung der Spin-Säule in einem neuen 1,5 ml-Mikrozentrifugenröhrchen. Zur Elution wurden 200 µl Puffer AE hinzugegeben. Der Ansatz wurde bei 15-20°C (Raumtemperatur) eine Minute lang inkubiert und bei 8000 U/min für eine Minute zentrifugiert. Dann wurde die Spin-Säule aus dem Reaktionsgefäß entfernt und verworfen. Das Reaktionsgefäß mit der DNA-Lösung wurde bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt.



**Abbildung 3** A: Spinsäule (rechts) mit 2 ml Auffangröhrchen (links) (QIAamp DNA Mini Kit), B: Spinsäule und Auffangröhrchen zusammengesetzt

Mit einem NanoDrop ND-1000 Spektralphotometer (PeqLab) und der dazugehörigen Software (Nano Drop 1000) wurde die Konzentration und Reinheit der DNA bestimmt. Hierbei wird das Spektrum des sichtbaren Lichts durch das Gerät in eine Anzahl schmaler Bänder zerlegt, dann wird bei verschiedenen Wellenlängen die Absorption durch die Probe gemessen. Die Nulllinie liegt bei einem Absorptionswert der Probe von 340 nm. Die Messung der Konzentration erfolgt bei einer Wellenlänge von 260 nm mit 10 mm Bandbreite. Die exakte DNA-Konzentration wird aus der Extinktion ( $E$ ) der Lösung anhand des unten genannten Verhältnisses berechnet:

$E_{260} = 1$ entspricht $50 \mu\text{g/ml}$ DNA
--

Die Reinheit der DNA wird durch die Absorptionsmessung bei drei Wellenlängen (230, 260 und 280 nm) bestimmt. Für Proteine liegt das Absorptionsmaximum bei 280 nm. Eine mögliche Kontamination mit Proteinen kann so über das Verhältnis der Nukleinsäuren-Absorption (260 nm) zur Protein-Absorption (280 nm) erkannt werden. Ist das Verhältnis etwa 1,8, spricht dies für eine reine Isolierung der DNA. Liegt das Verhältnis unter 1,8, kann dies ein Hinweis auf eine Verunreinigung durch Proteine, Phenol oder andere Stoffe mit starker Absorption bei 280 nm sein. Des Weiteren kann auch das Verhältnis 260/230 bestimmt werden. Der Normbereich liegt zwischen 1,8 und 2,2. Weicht der Wert davon ab, ist dies ein Hinweis auf weitere Verunreinigungen.

Die Messung erfolgte, wie oben bereits erwähnt, mit dem NanoDrop-1000 Spektralphotometer, die asservierte, eingefrorene Patienten-DNA wurde dafür aufgetaut und durchmischt (Vortexmischer). Zuerst wurde der NanoDrop durch eine Wasserprobe vorbereitet. Dann wurde eine Probe des AE-Puffers (Bestandteil des QIAamp DNA Mini Kit) als Leerwert registriert. Die eigentliche Messung erfolgte anschließend durch die Gabe von je 1,1 µl einer Patienten-Probe mit einer Pipette auf die Messfläche des Spektralphotometers und den anschließenden Start der Messung.

### 3.2.2 Quantitative real-time PCR (Taqman)

Für die genetische Diagnostik erfolgte zunächst die Vervielfältigung der DNA, die aus dem Vollblut isoliert wurde. Die vollautomatische Methode der quantitativen real-time PCR (polymerase chain reaction) ermöglicht in vitro eine effektive Amplifikation der DNA-Abschnitte. Während eines PCR-Zyklus erfolgt die Quantifizierung durch Fluoreszenz-Messungen. Es werden hochspezifische Sonden für die DNA, die quantifiziert wird, verwendet. Jede von diesen wird an beiden Enden markiert. Am 5'-Ende werden die Sonden durch einen fluoreszenten Reporter-Farbstoff markiert. Am 3'-Ende erfolgt die Markierung mit einem Quencher-Farbstoff. Des Weiteren wird die Schmelztemperatur der Proben durch einen „minor-groove binder“ (MBG) erhöht, der am 3'-Ende lokalisiert ist. So können kürzere Sonden designt werden und die Spezifität der Messung verbessert sich. Dadurch, dass Reporter und Quencher räumlich sehr nahe beieinanderliegen, kann Energie vom energetisch höheren Reporter auf den energetisch niedrigeren Quencher übertragen werden (Flourescence Resonance Energy Transfer= FRET). So kann es zur Unterdrückung des Fluoreszenz-Signals durch den Quencher kommen. Der Reporter-Farbstoff und der Quencher entfernen sich voneinander, wenn die Sonde zur Synthetisierung des Gegenstrangs im Rahmen der PCR von der Taq-Polymerase abgebaut wird. Die Taq-Polymerase besitzt eine 5'-3'-Exonuklease-Aktivität. So nimmt das Fluoreszenzsignal mit größer werdender Entfernung ebenso zu. Am Ende der Elongation in jedem Zyklus wird das Signal gemessen. Die Fluoreszenzstärke nimmt mit jedem Zyklus aufgrund der Akkumulation des PCR-Produkts zu.

Das Verfahren der Endpunkt-Bestimmung zur allelischen Diskriminierung wurde zur Auswertung des Taqman-Assays verwendet. Mit der Methode der allelischen Diskriminierung kann das Vorhandensein eines „single nucleotide polymorphisms“ (SNPs), also eines ausgetauschten Nukleotids in der Sequenz der c-DNA, erkannt werden. Durch einen solchen Austausch kann für eine andere Aminosäure kodiert werden als zuvor. So kann eine beeinträchtigte Funktion des Proteins oder ein verschobener Leserahmen vorliegen, je nachdem welche Aminosäure eingebaut wurde. Die DNA der Patienten wurde dann auf die drei Mutationen p.R702W (Exon 3,

c.2023C/T, rs2066844), p.G908R (Exon 7, c.2641C/G, rs2066845) und c.2030insC (Exon 11, c.3016\_3017insC, rs2066847) im *NOD2*-Gen überprüft.

Bei der Mutation p.R702W ersetzt die Base Thymin an Position 2023 der c-DNA die Base Cytosin. So kommt es dazu, dass die Aminosäure Tryptophan (W) im Protein auf Position 702 statt der Aminosäure Arginin (R) eingebaut wird. Bei der Variante p.G908R wird Cytosin an Stelle 2641 der c-DNA durch die Base Guanin ausgetauscht. So ist im Protein nicht mehr die Aminosäure Glycin (G), sondern Arginin (R) auf Position 908 aufzufinden. Bei der Variante c3020insC verschiebt sich die Aminosäure-Sequenz des Proteins durch ein zusätzliches Cytosin zwischen den Positionen 3016 und 3017 der c-DNA.

Zur Bestimmung des Vorhandenseins dieser Mutationen in der Patienten-DNA wurden in die Vertiefungen einer 96 PCR-Platte drei Ansatz-Reihen pipettiert, also jeweils ein Ansatz pro SNP. Zur Qualitätssicherung befanden sich am Beginn jeder Ansatzreihe drei Positiv-Kontrollen mit humanen Vergleichsproben sowie drei Negativ-Kontrollen mit sterilem Wasser. Im ersten Schritt wurden 4 µl des Grundansatzes (für p.R702W und p.G908R pro Ansatz je: Genotyping Mastermix 2,5 µl + Genotyping Assay 0,125 µl + steriles Wasser 1,375 µl; für c.3020insC pro Ansatz: Genotyping Mastermix 2, 5 µl+ Sonde VIC 0,1 µl+ Sonde FAM 0,1 µl+ Primer F 0,5 µl+ Primer R 0,5 µl+ steriles Wasser 0,3 µl) in die Vertiefungen der PCR-Platte pipettiert. Für die Mutationen p.R702W und p.G908R waren die Assays vom Hersteller Thermo Fisher vorhanden, während der Grundansatz für die Mutation c3020insC noch kreiert werden musste. Darauf wurde je 1 µl der jeweiligen Patienten-DNA gegeben. Zu den Ansätzen der Positiv-Kontrollen wurde, wie oben erwähnt, 1 µl humane Vergleichs-DNA (Konzentration der DNA: 5 ng/µl) gegeben, zu den Negativ-Kontrollen 1 µl steriles Wasser. Im Anschluss wurde die Platte mit einer Klebefolie verschlossen, um ein Verdampfen des Inhalts bei der PCR zu verhindern. Dann wurde die Platte in einer Mikroplattenzentrifuge mit Schwungeinsätzen 1 min bei 3000 U/min zur Entfernung von Luftblasen zentrifugiert und anschließend in das Taqman-Gerät eingebracht.

Das PCR-Programm lief in folgenden Schritten ab:

1. Pre-Read (Messung der Ausgangsfluoreszenz): 25°C, 1 Minute
2. Aktivierung AmpliTaq Gold: 95°C, 20 Sekunden
3. Cycling-Stage: 95°C, 3 Sekunden und 60°C, 30 Sekunden, 30 Zyklen
4. Post Read (Messung der Endfluoreszenz): 25°C, 1 Minute

Nach der Reaktion erfolgte die Messung der Endfluoreszenz. Durch die Sonden VIC und FAM wird das PCR-Produkt spezifisch für ein Allel nachgewiesen. Die Sonden und Primer wurden mit dem Programm „Primer Express“ (Applied Biosystems) erstellt. Die

Markierung der Sonde für das mutierte Allel erfolgte immer mit dem Reporter-Farbstoff VIC, die Sonde für das Wildtyp-Allel wurde mit dem Reporter-Farbstoff FAM markiert. Bei vorhandener Mutation war eine Bindung ausschließlich für die mit VIC markierte Sonde möglich. Umgekehrt ist bei Vorliegen des Wildtyp-Allels die Bindung nur für die FAM-markierte Sonde möglich. So kann der Taqman-Assay bei der allelischen Diskriminierung durch die Fluoreszenzsignale (FAM oder VIC) zwischen Wildtyp und Mutation unterscheiden.

### 3.2.3 Sequenzen der Assays

Im Folgenden sind die c-DNA-Sequenzen der Assays aufgelistet:

#### Mutation p.R702W

Sequenz [VIC/FAM]:

CCAGACATCTGAGAAGGCCCTGCTC[C/T]GCAACAGAGTGGGTGACGAGGGGGC

#### Mutation p.G908R

Sequenz [VIC/FAM]:

CTCTTTTGGCCTTTTCAGATTCTGG[C/G]GCAACAGAGTGGGTGACGAGGGGGC

#### Mutation c.3020insC

Primer

NOD2Ex10f: 5'-CCA GGT TGT CCA ATA ACT GCA TC-3'

NOD2Ex10r: 5'-CCT TAC CAG ACT TCC AGG ATG GT-3'

Sonden

NOD2Ex10VIC: 5'-TGC AGG CCC CTT G-3'

NOD2Ex10FAM: 5'-CTG CAG GCC CTT G-3'

### 3.2.4 Material

DNA-Extraktion:

QIAamp DNA Mini Kit	Qiagen (Hilden)
-Qiagen Protease	
-Puffer AL	
-Puffer AW1	
-Puffer AW2	
-Puffer AE	
Zentrifuge Eppendorf 5415D	Eppendorf (Hamburg)
Pulse Vortexer REAX 2000	Heidolph (Schwabach)
Thermomixer comfort	Eppendorf (Hamburg)
Pipetten 2,5, 10, 20, 100, 200 µl	Sarstedt (Nümbrecht)

Reaktionsgefäße 1,5 ml	Sarstedt (Nümbrecht)
Pipettenspitzen	Sarstedt (Nümbrecht)
2 ml Collection Tubes	Qiagen (Hilde)
Spin Columns	Qiagen (Hilde)

Bestimmung von Reinheit und Konzentration der DNA:

NanoDrop Spectrophotometer ND-1000	peQLab Biotechnologie GmbH (Erlangen)
Pulse Vortexer Vibra Mix	Denley
Pipette 2,5 µl	Eppendorf (Hamburg)
Pipettenspitzen	Sarstedt (Nümbrecht)
Präzisionswischtücher Kimech science	Kimberly-Clark Professional (Koblenz-Rheinhafen)

PCR:

Taqman® Real Time PCR 7500 fast	Applied Biosystems (Zug, Schweiz)
Tischzentrifuge	Eppendorf (Hamburg)
Plattenzentrifuge	Sigma (Osterode am Harz)
Diverse Kolbenhubpipetten	Eppendorf (Hamburg)
96 PCR Platte	Sarstedt (Nümbrecht)
Verschlussfolie	Sarstedt (Nümbrecht)
Aerosolgeschützte Pipettenspitzen	Sarstedt (Nümbrecht)
Reaktionsgefäße 1,5 ml (DNase-und RNase frei)	Sarstedt (Nümbrecht)
Steriles Wasser	
TaqMan® GTXpress-Master-Mix	Applied Biosystems (Zug, Schweiz)
Assay: <i>NOD2</i> p.R702W, rs2066844	Thermo Fisher (Waltham, Massachusetts, USA)
Assay-ID: C_11717468_20	
Assay <i>NOD2</i> p.G908R, rs2066845	Thermo Fisher (Waltham, Massachusetts, USA)
Assay-ID: C_11717466_20	
Primer <i>NOD2</i> c.3020insC (rs2066847)	Thermo Fisher (Waltham, Massachusetts, USA)
<i>NOD2</i> Ex10f	
<i>NOD2</i> Ex10r	
Sonden <i>NOD2</i> c.3020-/C, rs2066847	Thermo Fisher (Waltham, Massachusetts, USA)
<i>NOD2</i> Ex10VIC	
<i>NOD2</i> Ex10FAM	
Low-TE Puffer pH7,6 (1mM Tris-HCl, 0,01mM EDTA), steril filtriert	Thermo Fisher (Waltham, Massachusetts, USA)
Referenzmaterial:	
Positiv-Kontrollen: PCR-Produkte von Plasmiden, in die das entsprechende PCR-Produkt hineinkloniert wurde-	
Negativ-Kontrollen: steriles Wasser	

### 3.3 Klinisch-chemische Parameter

<i>Parameter</i>	<i>Einheit</i>
Natrium	mmol/l
Kalium	mmol/l
Calcium	mmol/l
Kreatinin	mg/dl
Kreatinin-Clearance	-
Harnstoff	mg/dl
Bilirubin	mg/dl
ASAT	U/l
ALAT	U/l
GGT	U/l
AP	U/l
CRP	mg/l
Albumin	g/l
Protein	g/l
Hb	g/dl
Thrombozyten	1000/ml
Leukozyten	1000/ml
INR	-
Quick	%
PTT	s

**Tabelle 3** Laborparameter (zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses)

Aus Kreatinin (mg/dl), Bilirubin (mg/dl) und INR wurde der MELD-Score (72) zur Abschätzung der Mortalität der Patienten berechnet. In den Child-Pugh-Score (68,69) fließen HE (Grad), Aszites (Ausprägung), Quick-Wert (%), Bilirubin (mg/dl) und das Serumalbumin (g/dl) ein.

### 3.4 Dekompensation

Definiert ist die Dekompensation durch das Auftreten einer HE, Aszites, Ikterus oder einer Ösophagusvarizenblutung in der Vergangenheit oder zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses. Genauer erfolgte die Einteilung der HE nach der West-Haven-Klassifikation (31,32), die in Tabelle 1 in der Einleitung dargestellt wird.

Die Bestimmung von Aszites erfolgte durch klinische Untersuchung und wurde durch eine Sonographie des Abdomens bestätigt. Ein Ikterus war definiert durch ein Gesamtbilirubin von mindestens 3 mg/dl oder einen Anstieg um mindestens 3 mg/dl (30).

Die Definition einer Ösophagusvarizenblutung erfolgte nach den Baveno-Kriterien (56,63).

### 3.5 Portale Hypertension

Eine portale Hypertension wurde entweder durch einen vorhandenen HVPG-Wert oder bei fehlender HVPG-Messung durch den LSPS-Score festgestellt, wie in der Einleitung beschrieben.

### 3.6 Bakterielle Infektionen

Es erfolgte die Dokumentation aller bakteriellen Infektionen, aktuell oder in der Vorgeschichte. Die bakteriellen Infektionen wurden nach Kriterien diagnostiziert, die Bajaj et al. 2012 in ihrer Untersuchung zu bakteriellen Infektionen bei terminaler Lebererkrankung beschrieben haben (111). Es wurden nur bakterielle Infektionen berücksichtigt, die eine antibiotische Behandlung erforderlich machten.

Ein **Harnwegsinfekt** konnte bei mehr als 10 Leukozyten pro Gesichtsfeld bei höchster Auflösung im Mikroskop (high powerfield) und positiven Urinkulturen oder bei negativen Kulturen, aber über 500 Leukozyten pro Mikroliter Urin diagnostiziert werden (112,113).

Für **pulmonale Infektionen** wurden folgende Kriterien angewandt: neu aufgetretenes Infiltrat im Röntgen-Thorax und zusätzlich mindestens zwei der folgenden Kriterien: Dyspnoe, Körpertemperatur über 38°C oder unter 35°C und Zeichen einer pulmonalen Infektion wie Husten, eitriger Auswurf oder pleuritische Brustschmerz bei der körperlichen Untersuchung (112,114).

Die Diagnose der **SBP** erfolgte beim Nachweis von mehr als 250 neutrophilen Granulozyten pro Mikroliter im Aszitespunktat. War kein Differentialblutbild aus dem Aszites vorhanden, wurde eine SBP bei mehr als 500 Leukozyten pro Mikroliter diagnostiziert (75,115,116).

Durch das Vorhandensein einer Infektion mit systemischer Manifestation wie Fieber, Hypothermie, Tachykardie oder Hypotension (<90 mmHg) sowie Zeichen einer Organ-Dysfunktion wurde eine **Sepsis** definiert. Als Beispiele für eine organische Funktionsstörung werden nach internationalen Konsenskriterien Kreatininanstieg über 0,5 mg/dl, Oligurie, abnorme Gerinnungsparameter (INR>1,5, PTT>60 s), Ileus, Thrombozytopenie, Hyperbilirubinämie (>4 mg/dl) oder Hypoxämie gezählt (117).

Der Befund einer **Clostridium-Difficile-Colitis** wurde bei Diarrhoe mit Clostridium-Difficile-Toxin-Nachweis erhoben (118).

Bei positiver Blutkultur ohne Infektfokus erfolgte die Diagnose einer spontanen **Bakteriämie**. Bei positiver Blutkultur mit Infektfokus wurde diese der Primärinfektion

(beispielsweise Harnwegsinfekt, SBP, pulmonale Infektion) zugeordnet, nicht der spontanen Bakteriämie.

Bei Zeichen einer Infektion ohne aufzufindenden Fokus sowie negativer Blutkultur wurde diese als **Infektion mit unbekanntem Fokus** gewertet (119).

Alle übrigen bakteriellen Infektionen, die eine antibiotische Behandlung erforderten, wurden unter „andere Infektionen“ eingetragen.

### 3.7 Statistische Analyse

Das Programm SPSS, Version 24.0, wurde für die statistische Analyse verwendet. Für dichotome qualitative Variablen wurden die Ziffern 1 für „nein“ und 2 für „ja“ verwendet, mit Ausnahme der Variable „Geschlecht“, wobei 1 für „männlich“ und 2 für „weiblich“ stand. Lagen mehrere Ausprägungen einer qualitativen Variablen vor, so war die Bedeutung der jeweiligen Ziffern in der Codierung angegeben. Bei quantitativen Variablen war stets die Einheit in der Codierung beschrieben. Zu den Ergebnissen quantitativer Variablen waren stets Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die univariate Analyse erfolgte mit verschiedenen statistischen Testverfahren. Bei der Prüfung qualitativer Variablen kam der  $\chi^2$ -Quadrat Test zum Einsatz. Beim Vergleich zweier Gruppen in Bezug auf eine quantitative Variable erfolgte, nach Vorliegen einer Normalverteilung, im Falle einer Normalverteilung der t-Test, war dies nicht der Fall wurde der Man-Whitney-U-Test verwendet. Das Signifikanz-Niveau wurde auf einen p-Wert  $<0,05$  (zweiseitig) festgelegt. Zudem wurde die Odds Ratio (OR) und das 95%-Konfidenzintervall (95% KI) angegeben. Die OR gibt bei Werten über 1 einen positiven Zusammenhang zwischen zwei Variablen an. Werte zwischen 0 und 1 sprechen für einen negativen Zusammenhang zweier Variablen (53). Das 95%-Konfidenzintervall gibt einen Wertebereich an, der mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% den wahren Wert enthält (53).

Variablen, die sich in der univariaten Analyse als signifikant darstellten, wurden durch logistische Regression in schrittweiser Rückwärts-Selektion in multivariate Modelle eingeschlossen. So wurden verschiedene Modelle konstruiert, um Kollinearität und Überanpassung zu vermeiden. Kollinearität wurde durch den Varianzinflationsfaktor getestet. Je größer dieser ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass Kollinearitäten vorhanden sind. Eine Überanpassung (Overfitting) wurde dadurch verhindert, dass maximal 5 bis 10 Variablen in Modelle eingeführt wurden.

Zur Auswahl und Bewertung der verschiedenen Modelle wurden das Akaike Informationskriterium (Akaike information criterion, AIC) und das Bayessche Informationskriterium (Bayesian Information Criterion, BIC) verwendet. Das AIC wurde im Jahr 1973 von Hirotugu Akaike entworfen und ist das älteste Informationskriterium. Es dient dazu, das beste Modell für einen bestimmten Datensatz herauszufinden.

Dasjenige Modell mit dem kleinsten AIC-Wert sollte bevorzugt werden. Außerdem enthält das AIC einen sogenannten Strafterm, der mit der Anzahl der Parameter zunimmt. So soll verhindert werden, dass Modelle durch viele verschiedene Variablen zu komplex werden (120,121). Beim BIC, das im Jahr 1978 von Gideon Schwarz entworfen wurde, ist der Strafterm zusätzlich zur Anzahl der Parameter von der Stichprobengröße abhängig. So ergeben sich durch eine hohe Anzahl von Parametern bei größerer Stichprobe höhere BIC-Werte (121,122). Da beim AIC bei kleinen Stichproben die Wahrscheinlichkeit einer Auswahl von Modellen mit zu vielen Parametern erhöht ist, wurde im Jahr 1989 das korrigierte Akaike Informations Kriterium (cAIC) entworfen. Bei einer großen Anzahl von Parametern wird durch Multiplikation des AIC mit einem Korrektur-Faktor auch bei kleineren Stichproben der Wert des Informationskriteriums erhöht. (123,124).

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Gesamtkollektiv

Von anfangs 810 Patienten wurden 750 Patienten in die Studie eingeschlossen. Gründe für einen Ausschluss waren, wie oben genannt, einerseits schwere Komorbiditäten (16 Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz, 4 Patienten mit fortgeschrittener Krebserkrankung, 1 Patient mit Myasthenia Gravis, 1 Patient mit Hypophyseninsuffizienz, 1 Patient mit Subdural-Hämatom mit Herniation) und in 7 Fällen eine unklare ethnische Zugehörigkeit der Patienten. Außerdem lag in 14 Fällen keine Leberzirrhose vor und in 16 Fällen waren zu wenige Daten vorhanden.

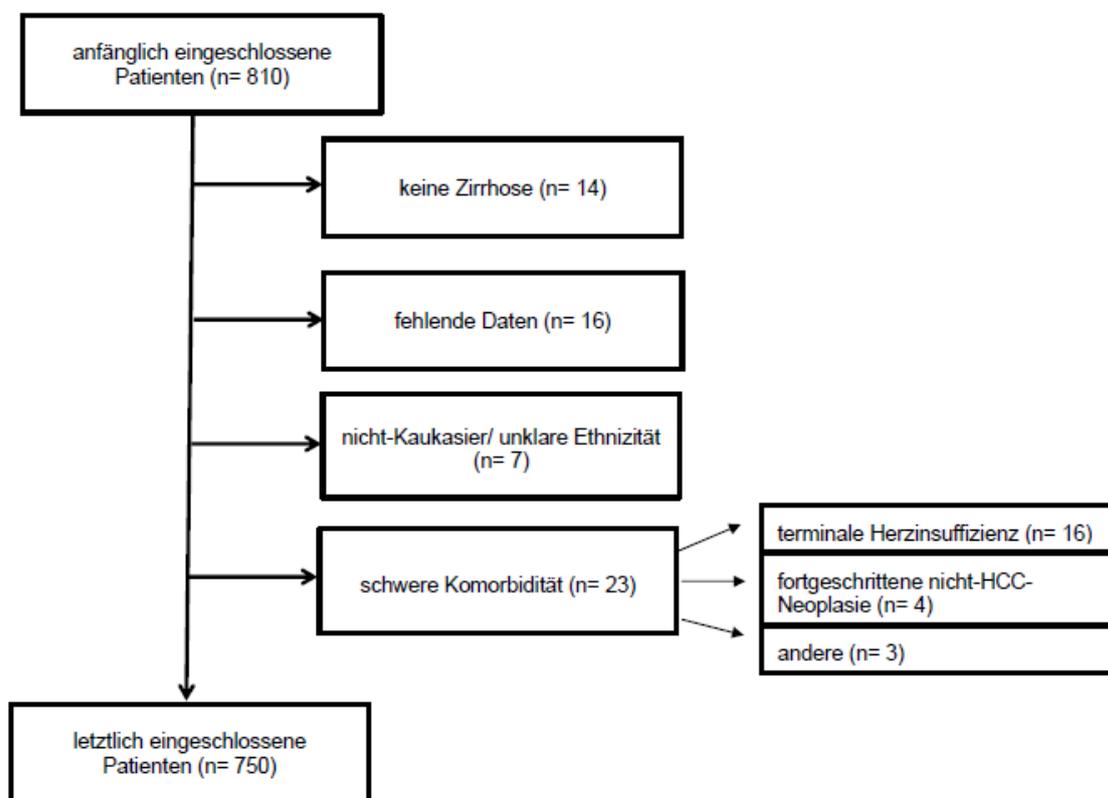
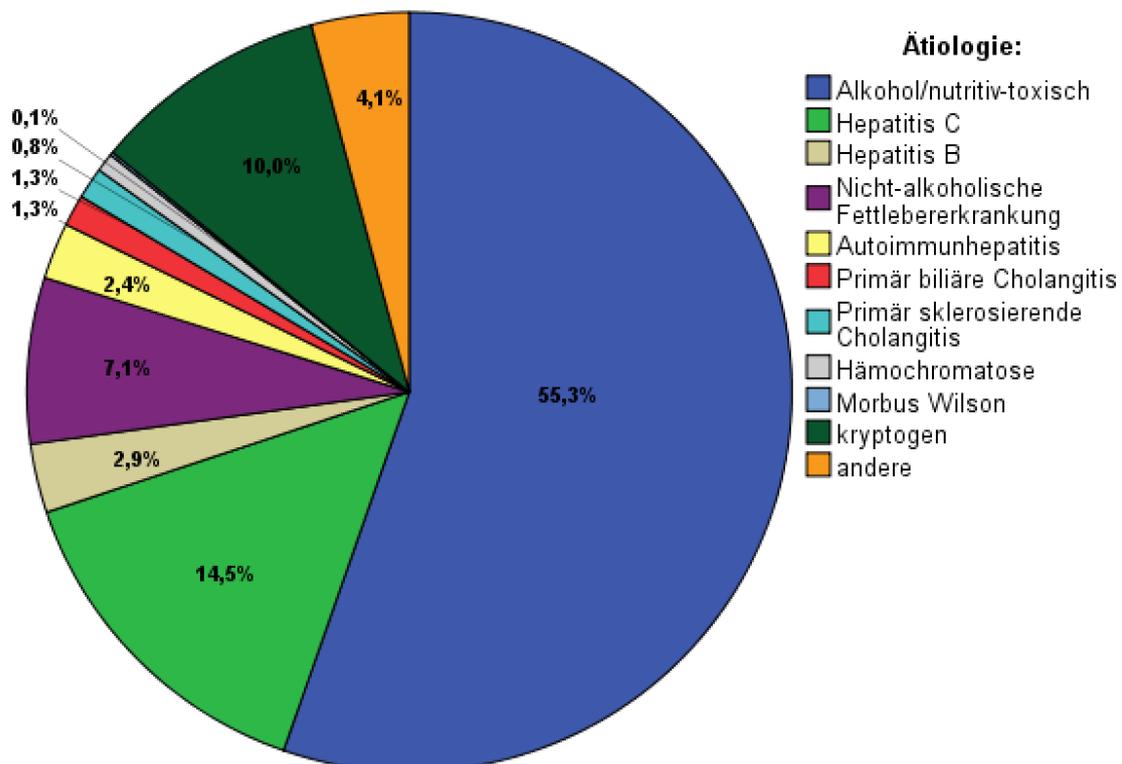


Abbildung 4 Ein- und Ausschluss von Patienten in die Studie, Flussdiagramm

Fand eine Lebertransplantation statt, so wurden die Daten des Patienten bis zum Zeitpunkt der Transplantation aufgenommen (31 Patienten, 4.1%) und anschließend zensiert. Von den 750 Patienten wurden 534 (71.2%) am Universitätsklinikum Homburg und 216 (28.8%) am Universitätsklinikum Halle stationär und/oder ambulant behandelt. Davon waren 487 (64.9%) männlich und 263 (35.1%) weiblich. Die Patienten im Gesamtkollektiv waren zwischen 26 und 92 Jahre alt, der Altersdurchschnitt betrug 60.6 Jahre (Standardabweichung (SD) 11.1, Spannweite 66). Die weiblichen Patienten waren zwischen 26 und 91 Jahre alt, der Durchschnitt lag bei 60.9 Jahren (SD 11.9, Spannweite

65). Die Männer waren zwischen 29 und 92 Jahre alt, durchschnittlich 60.5 Jahre (SD 10.6, Spannweite 63). In den beiden Subkollektiven Homburg und Halle war die Altersverteilung gleichmäßig (Kruskal-Wallis-Test,  $p = 0.78$ ) verteilt. Ein Diabetes Mellitus Typ 2 lag bei insgesamt 225 (30.0%) Patienten vor. Die Entstehung der Leberzirrhose war in den meisten Fällen alkoholisch/nutritiv toxisch (415 Fälle, 55.3%) bedingt. An zweiter Stelle stand das Hepatitis C-Virus (109 Fälle, 14.9%). Ein Überblick über die weitere Verteilung der Ursachen ist in Abbildung 5 zu finden.



**Abbildung 5** Ätiologie der Leberzirrhose im Gesamtkollektiv

Tabelle 4 liefert einen Überblick über die Laborparameter des Gesamtkollektivs.

Parameter	Einheit	N	Mittelwert	Minimum	Maximum	Standardabweichung
Natrium	mmol/l	723	137.6	117	157	4.8
Kalium	mmol/l	724	4.1	2.4	6.3	0.5
Calcium	mmol/l	632	2.2	0.9	2.9	0.2
Kreatinin	mg/dl	735	1.1	0.1	10.7	0.7
Kreatinin-Clearance	-	530	85.0	4.9	5009.0	215.9
Harnstoff	mg/dl	518	39.9	2.1	245.0	31.0
Bilirubin	mg/dl	748	2.3	0.1	35.6	4.0
ASAT	U/l	462	67.4	8.0	871.8	84.5
ALAT	U/l	742	54.8	5.0	1675.0	111.0

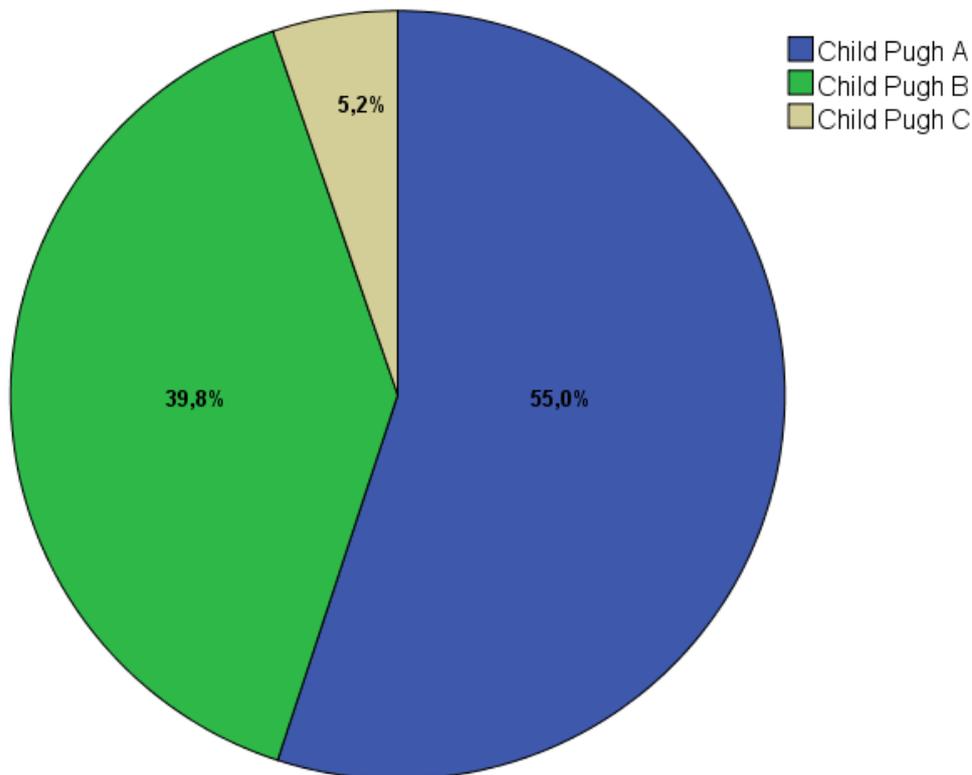
						Ergebnisse
Gamma-GT	U/l	747	241.4	12.0	5795.0	401.6
AP	U/l	728	152.1	1.5	1442.4	143.7
Albumin	g/l	729	35.4	12.1	52.0	7.2
CRP	mg/l	691	18.3	0.1	336.2	31.2
Protein	g/l	150	72.8	38.0	96.0	9.1
Hb	g/dl	744	12.0	5.5	19.4	2.5
Thrombozyten	1000/ml	743	154.2	9	1887	109.4
Leukozyten	1000/ml	743	7.0	0.7	36.2	3.9
INR	-	740	1.3	0.8	7.63	0.4
Quick	%	739	71.7	11	116	20.1
PTT	s	733	32.2	20.0	77.0	7.4

**Tabelle 4** Laborwerte des Gesamtkollektivs

Die Verteilung der Werte des MELD-Scores reichte von 6 bis 40. Der mediane MELD-Score lag bei 10.8 (IQR 8.3-14.9). Der Child-Pugh-Score konnte bei 727 Patienten erhoben werden. Bei 23 (3.1%) Patienten fehlten einzelne Laborwerte zu Bestimmung. Die meisten Patienten wurden als Child A klassifiziert (55.0%), zur genauen Verteilung siehe Tabelle 5 sowie Abbildung 6.

	<i>Häufigkeit</i>	<i>Prozent</i>
Child Pugh A	400	55.0
Child Pugh B	289	39.8
Child Pugh C	38	5.2
Gesamt	727	100

**Tabelle 5** Child-Pugh-Score, Gesamtkollektiv



**Abbildung 6** Child Pugh Score, Stadien

544 (72.5%) Patienten waren vor Einschluss (117, 15.6%) oder zum Studieneinschluss (427, 56.9%) dekompenziert. Die häufigste Ursache einer Dekompensation war Aszites (403, 53.7%), darauf folgte Ikterus (230, 30.7%). Die Anzahl der Patienten mit HE betrug 144 (19.2%). Zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses waren bei 381 (50.8%) Patienten Ösophagusvarizen vorhanden. Eine Varizenblutung trat bei 107 (14.3%) Patienten in der Vorgeschichte auf. 206 (27.5%) Patienten waren zum Studieneinschluss noch nie dekompenziert.

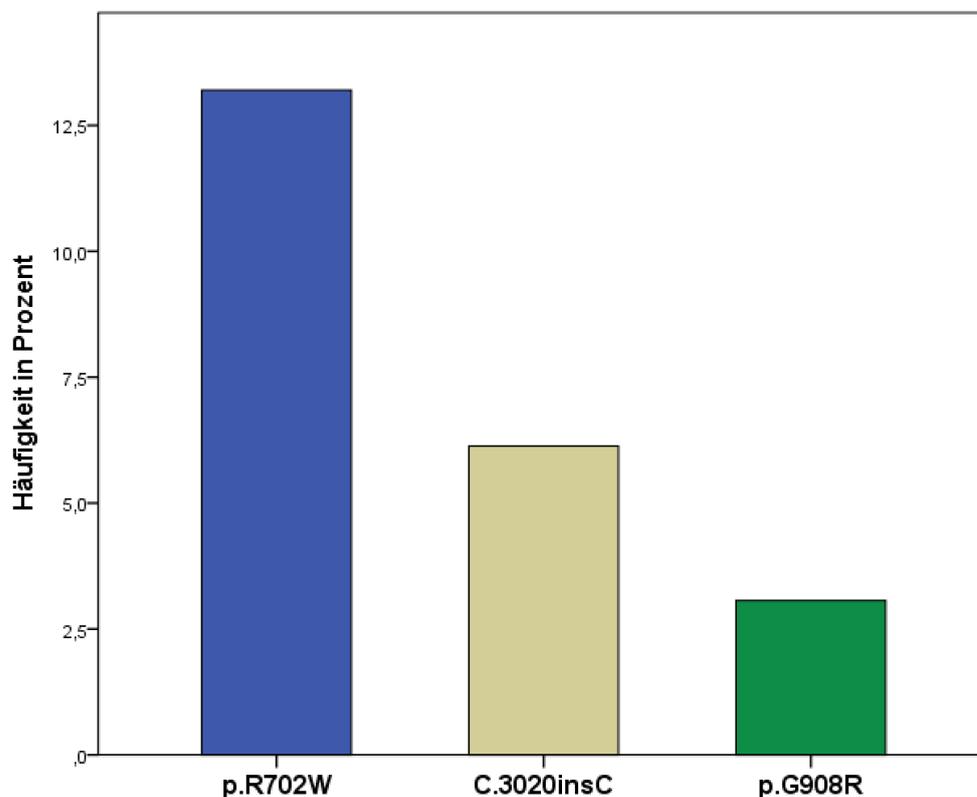
Ein HCC wurde insgesamt bei 92 Patienten (12.3%) diagnostiziert, davon bei 10 (1.3%) Patienten eine frühe Form des HCCs mit einem Durchmesser unter 2 cm (125) und bei 82 Patienten ein HCC über 2 cm [BCLC-Klassifikation: Stadium 0: 10 (1.3%), Stadium A: 43 (5.7%), Stadium B: 26 (3.1%), Stadium C: 9 (1.2%), Stadium D: 4 (0.5%)].

Eine *NOD2*-Mutation lag bei insgesamt 164 (21.9%) Patienten vor. Dabei gab es lediglich bei zwei Patienten (0.003%) homozygote Varianten im *NOD2*-Gen, sodass die weiteren Berechnungen aufgrund der geringen Fallzahl homozygoter Mutationen nach An- oder Abwesenheit einer Mutation im *NOD2*-Gen im Allgemeinen gemacht wurden und nicht genauer auf Veränderungen bei homo- und heterozygoten Varianten im Speziellen eingegangen wurde. *NOD2*-Varianten traten in ähnlicher Häufigkeit sowohl bei kompensierten (43, 20.9%) als auch bei dekompenzierten Patienten (121, 22.2%) auf. Hierbei lag kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen kompensierten und

dekompensierten Patienten vor ( $p = 0.767$ ). Die Variante p.R702W trat bei 99 (13.2%) Patienten auf und war somit am häufigsten vorhanden, c3020insC wurde bei 46 (6.1%) Personen festgestellt und p.G908R bei 23 (3.1%). Beim Vergleich der Prävalenz mit den Daten der Allgemeinbevölkerung aus der ExAC-Datenbank fällt im hier untersuchten Patientenkollektiv ein deutlich höherer Anteil an Patienten mit *NOD2*-Varianten auf.

	ExAC-Datenbank	Gesamtkollektiv	Kompensiert	Dekompensiert
<i>NOD2</i>		21.9% (164)	20.9% (43)	22.2% (121)
p.R702W	3.5%	13.2% (99)	15.5% (32)	12.2% (67)
p.G908R	1.5%	3.1% (23)	1.9% (4)	3.5% (19)
c.3020insC	2.0%	6.1% (46)	4.4% (9)	6.8% (37)

**Tabelle 6** Vergleich der Prävalenz der drei *NOD2*-Mutationen in unserer Kohorte mit der Prävalenz in der ExAC-Datenbank (102)



**Abbildung 7** Verteilung der *NOD2*-Varianten p.R702W, c3020insC und p.G908R im Gesamtkollektiv

Insgesamt wurden 493 bakterielle Infektionen bei 278 (37.1%) Patienten registriert. Erwartungsgemäß (74) war die Prävalenz von bakteriellen Infektionen bei dekompensierten ( $n=243$ , 44.7%) Patienten sehr viel höher als bei kompensierten ( $n=35$ , 17.0%) Patienten. Die verschiedenen Infektionen mit absoluter und relativer Häufigkeit sind in Tabelle 7 aufgelistet. Eine Darstellung der „sonstigen“ Infektionen ist in Tabelle 8 zu finden.

<i>Art der Infektion</i>	<i>Häufigkeit</i>	<i>Prozent</i>
Harnwegsinfektion	132	26.8
Pulmonale Infektion	80	16.2
SBP	70	14.2
Sepsis	46	9.3
Infektion mit unbekanntem Fokus	25	5.1
Spontane Bakteriämie	24	4.9
Clostridium difficile-Kolitis	9	1.8
Sonstige Infektionen	107	21.7
Gesamt	493	100

**Tabelle 7** Bakterielle Infektionen im Gesamtkollektiv

<i>Bakterielle Infektion</i>	<i>Häufigkeit</i>	<i>Prozent</i>
Akute Cholangitis	19	17.8
Erysipel	18	16.8
Abszess	15	14.0
Akute Cholezystitis	12	11.2
Katheterassoziierte Infektion	5	4.7
Pyelonephritis	5	4.7
Wundinfektion	4	3.7
Bakterielle Peritonitis	3	2.8
Bakterielle Pleuritis	3	2.8
Endokarditis	3	2.8
Gastroenteritis	3	2.8
Appendizitis	2	1.9
Diabetisches Fußsyndrom mit bakterieller Infektion	2	1.9
Osteomyelitis	2	1.9
Parotitis	2	1.9
Periprothetische Infektion	2	1.9
Spondylodiszitis	2	1.9
Eitrige Laryngitis	1	0.9
Kolitis	1	0.9
Epididymitis	1	0.9
Otitis media	1	0.9
Phlebitis	1	0.9
Gesamt	107	100

**Tabelle 8** Sonstige Infektionen im Gesamtkollektiv

Zur Bestimmung der portalen Hypertension wurde in 141 (18.8%) Fällen eine HVPG-Messung vorgenommen. Der durchschnittliche Wert betrug 18.7 mmHg (SD 6.0). Eine Messung der Milzgröße lag in 667 (88.9%) Fällen vor (Mittelwert 13.3 cm, SD 2.7). Die Lebersteifigkeitsmessung ergab durchschnittlich 39.4 kPa (Spannweite 68) und wurde bei 422 (56.3%) Patienten durchgeführt. Eine LSPS-Score-Bestimmung lag bei insgesamt 386 (51.5%) Patienten mit einem Durchschnittswert von 5.4 (Spannweite 50.4) vor.

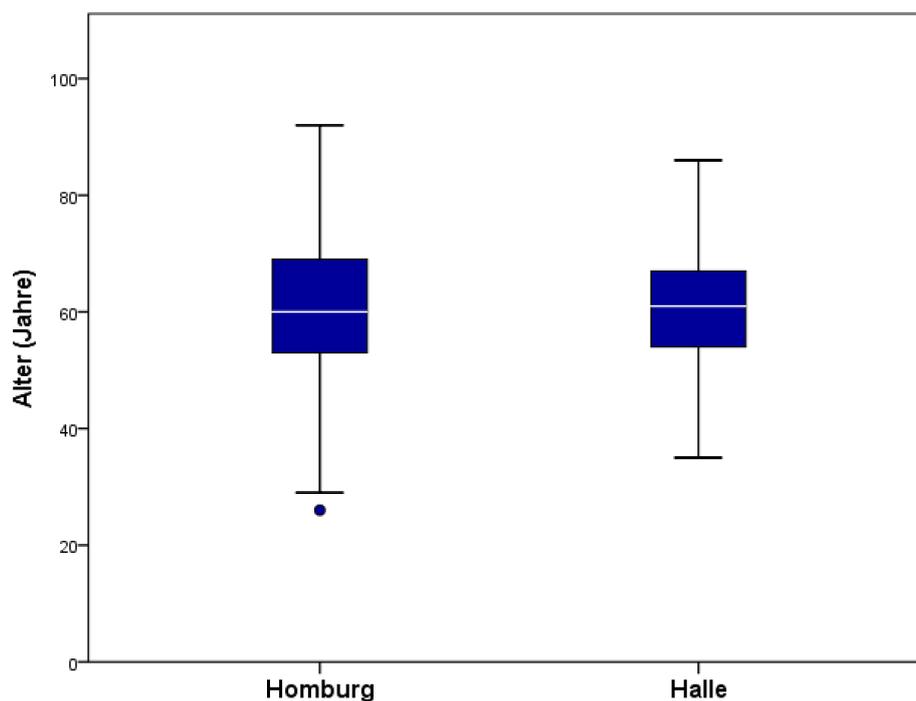
## 4.2 Patientenkollektive Homburg und Halle

Parameter	Homburg	Halle	p-Wert
Anzahl Patienten	534	216	
Alter (Jahre)	60.6 (26-92)	60.8 (35-86)	0.78
MELD	11.96 (6-41)	13.6 (6.50)	<b>&lt;0.01</b>
CPS	6.5 (5-11)	6.9 (5-12)	<b>&lt;0.01</b>
NOD2 Mutation (ja)	109 (20.4)	53 (25.5%)	0.13
Geschlecht (männlich)	349 (65.4%)	138 (63.9%)	0.70
Diabetes mellitus Typ 2 (ja)	148 (27.7%)	77 (35.6%)	<b>0.03</b>
Bakterielle Infektionen (ja)	181 (33.9%)	97 (44.9%)	<b>&lt;0.01</b>
Dekompensiert (vor Studieneinschluss oder zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses)	374 (70.0%)	155 (71.8%)	<b>0.02</b>
HE (ja)	89 (16.7%)	55 (25.5%)	<b>&lt;0.01</b>
Aszites (ja)	248 (46.4%)	155 (71.8%)	<b>&lt;0.01</b>
Varizenblutung (ja)	62 (11.6%)	44 (20.4%)	<b>&lt;0.01</b>
Ikterus (ja)	166 (31.1%)	64 (29.6%)	0.73
Lebersteifigkeitsmessung (kPa)	39.4 (7-75)	-	-
Milzgröße (cm)	13.3 (7-22-2)	13.3 (7.9-21.7)	0.96
LSPS	5.4 (0.1-50.5)	-	-
HPVG (mmHg)	17.7 (2-32)	19.34 (2-33)	0.11
CSPH (ja)	306 (75.9%)	83 (96.5%)	<b>&lt;0.01</b>
Natrium (mmol/l)	137.7 (117-157)	137.1 (118-147)	0.13
Kreatinin (mg/l)	1.1 (0.1-10.7)	1.2 (0.2-5.8)	0.06
Bilirubin (mg/dl)	2.4 (0.1-35.6)	2.2 (0.1-30.8)	0.67
ASAT (U/l)	68.3 (8.0-863.0)	66.3 (11.4-871.8)	0.80
ALAT (U/l)	56.9 (5.0-1675.0)	49.4 (8.4-1074.0)	0.41
CRP (mg/dl)	15.7 (0.1-336.2)	26.7 (0.3-307.7)	<b>&lt;0.01</b>
Albumin (g/l)	36.1 (14.0-52.0)	33.4 (12.1-47.9)	<b>&lt;0.01</b>
Protein (g/l)	73.2 (38-96)	68.00 (58-84)	<b>0.02</b>

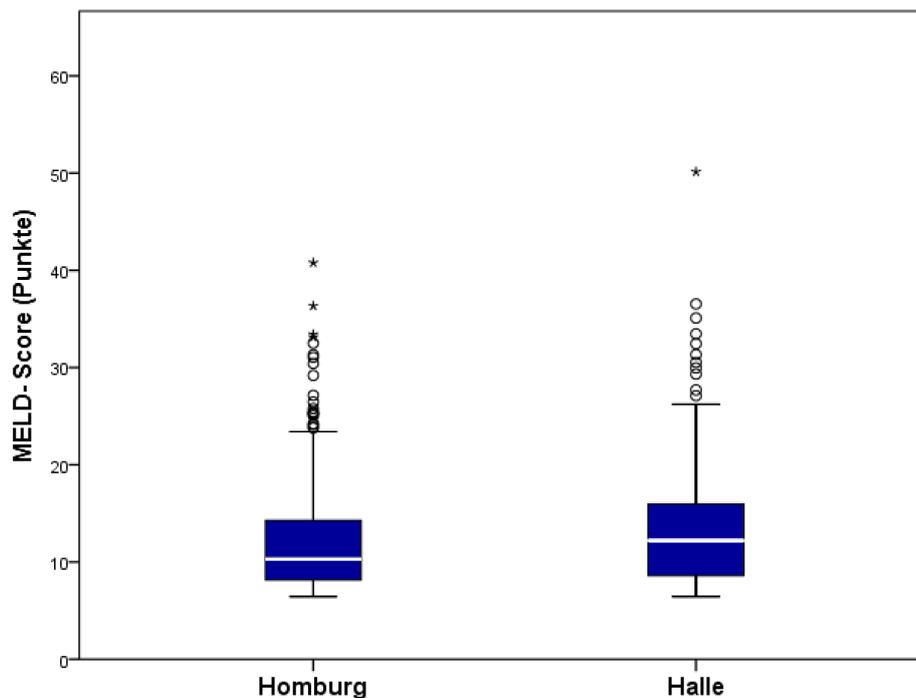
Hämoglobin (g/dl)	12.3 (5.9-19.4)	11.2 (5.5-17.2)	<b>&lt;0.01</b>
Thrombozyten (x10 <sup>9</sup> )	149.8 (24-1887)	165.3 (9-734)	0.08
Leukozyten (x10 <sup>9</sup> )	6.7 (0.7-36.2)	7.6 (1.8-33.5)	<b>0.01</b>
INR	1.2 (0.8-3.0)	1.4 (0.91-7.63)	<b>&lt;0.01</b>
PTT (s)	30.5 (20.0-77.0)	36.8 (26.0-71.0)	<b>&lt;0.01</b>

**Tabelle 9** Vergleich der Baseline-Daten der Kohorten von Homburg und Halle

In Bezug auf Alter, Geschlecht und den Anteil der Patienten mit *NOD2*-Mutation unterschieden sich die Patientenkollektive nicht signifikant. Bei Betrachtung der MELD- und Child-Pugh-Score-Werte fällt jedoch auf, dass das Kollektiv aus Halle signifikant höhere Werte aufwies, was zeigt, dass im Patientenkollektiv aus Halle mehr Patienten mit fortgeschrittener Lebererkrankung eingeschlossen waren. Dies spiegelte sich auch in der Anzahl von Patienten mit Dekompensation sowie dem Vorhandensein einer CSPH und der Häufigkeit des Auftretens von bakteriellen Infektionen wider (Tabelle 9).



**Abbildung 8** Alter der Patienten der Kohorten aus Homburg (Mittelwert 60.6, Spannweite 66) und Halle (Mittelwert 60.8 Jahre, Spannweite 51),  $p=0.78$ .



**Abbildung 9** Punkte im MELD-Score in den Kohorten aus Homburg (Median 11.96, Spannweite 35) und Halle (Median 13.6 Punkte, Spannweite 44),  $p=0.002$

Ebenso lässt sich dieser Unterschied an den Laborwerten erkennen. So sind die Werte von CRP, Leukozyten, INR und PTT bei den Patienten aus Halle deutlich höher (Tabelle 9). Dies ist einerseits durch die vermehrten bakteriellen Infektionen zu erklären, andererseits durch eine schlechtere Leberfunktion. Signifikant höhere Werte der Patienten aus Homburg bei Hämoglobin-, Protein- und Albuminspiegeln sprechen für einen besseren Allgemeinzustand und eine weniger eingeschränkte Leberfunktion dieser Patienten.

### 4.3 Bakterielle Infektion und *NOD2*-Mutation

Es bestand in der Gesamtkohorte ein Zusammenhang zwischen dem gehäuften Auftreten von bakteriellen Infektionen und dem Vorhandensein einer *NOD2*-Variante ( $p < 0.01$ , OR 1.64, 95% KI 1.16-2.33). Am ausgeprägtesten war diese Assoziation bei der Variante p.R702W ( $p = 0.004$ , OR 1.89, 95% KI 1.24-2.90). Bei der Variante c.3020insC bestand ebenfalls ein Zusammenhang, jedoch ein deutlich kleinerer ( $p = 0.16$ , OR 1.60, 95% CI 0.88-2.92). Bei der Variante p.G908R war keine Assoziation erkennbar ( $p = 0.66$ , OR 0.74, 95% KI 0.30-1.81), was mit der geringen Fallzahl (23 Patienten, 3,1%) der Variante zusammenhängen kann. Die oben beschriebene Assoziation bezieht sich auf das Vorliegen einer bakteriellen Infektion generell, nicht auf eine spezifische Infektion. Assoziationen bei spezifischen Infektionen zeigten sich bei Infektionen mit unbekanntem Fokus (eine der drei *NOD2*-Varianten  $p = 0.01$ , c.3020insC  $p = 0.003$ ) und bei der

pulmonalen Infektion (c.3020insC  $p = 0.003$ ). Eine ausführliche Darstellung der oben beschriebenen Daten ist in den folgenden Tabellen 10-13 zu sehen.

<i>Bakterielle Infektion</i>	<i>Total (N=750)</i>	<i>NOD2-Mutation (N=164)</i>	<i>NOD2-Wildtyp (N=586)</i>	<i>OR</i>	<i>95% KI</i>	<i>P-Wert</i>
Bakterielle Infektion (ja)	278 (37.1%)	76 (46.3%)	202 (34.5%)	1.64	1.16-2.33	<b>&lt;0.01</b>
Harnwegsinfektion (ja)	108 (14.4%)	27 (16.5%)	81 (13.8%)	1.23	0.76-1.98	0.38
Pulmonale Infektion (ja)	73 (9.7%)	22 (13.4%)	51 (8.7%)	1.63	0.95-2.77	0.08
SBP (ja)	58 (7.7%)	15 (9.1%)	43 (7.3%)	1.27	0.69-2.35	0.41
Sepsis (ja)	41 (5.5%)	10 (6.1%)	31 (5.3%)	1.16	0.56-2.42	0.70
Clostridium difficile-Kolitis (ja)	7 (0.9%)	2 (1.2%)	5 (0.9%)	1.44	0.28-7.46	0.65
Spontane Bakteriämie (ja)	23 (3.1%)	7 (4.3%)	16 (2.7%)	1.59	0.64-3.93	0.31
Infektion mit unbekanntem Fokus (ja)	25 (3.3%)	11 (6.7%)	14 (2.4%)	2.94	1.31-6.6	<b>0.01</b>
Sonstige Infektionen (ja)	84 (11.2%)	23 (14.0%)	61 (10.4%)	1.4	0.84-2.35	0.21

**Tabelle 10** Assoziation einer *NOD2*-Mutation (Vorhandensein einer der drei Varianten) mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte)

<i>Bakterielle Infektion</i>	<i>Total N=750</i>	<i>p.R702W-positiv (N=99)</i>	<i>p.R702W-negativ (N=651)</i>	<i>OR</i>	<i>95% KI</i>	<i>P-Wert</i>
Bakterielle Infektion (ja)	278 (37.1%)	50 (50.5%)	228 (35.0%)	1.89	1.24-2.90	<b>&lt;0.01</b>
Harnwegsinfektion (ja)	108 (14.4%)	17 (17.2%)	91 (14.0%)	1.28	0.72-2.25	0.44
Pulmonale Infektion (ja)	73 (9.7%)	9 (9.1%)	64 (9.8%)	0.92	0.44-1.91	1.00
SBP (ja)	58 (7.7%)	12 (12.1%)	46 (7.1%)	1.81	0.93-3.56	0.10
Sepsis (ja)	41 (5.5%)	7 (7.1%)	34 (5.2%)	1.38	0.60-3.21	0.47
Clostridium difficile-Kolitis (ja)	7 (0.9%)	2 (2.0%)	5 (0.8%)	2.66	0.51-13.92	0.23
Spontane Bakteriämie (ja)	23 (3.1%)	6 (6.1%)	17 (2.6%)	2.41	0.93-6.26	0.11
Infektion mit unbekanntem Fokus (ja)	25 (3.3%)	5 (5.1%)	20 (3.1%)	1.68	0.62-4.48	0.36
Sonstige Infektionen (ja)	84 (11.2%)	16 (16.2%)	68 (10.4%)	1.65	0.92-2.99	0.12

**Tabelle 11** Assoziation der Variante p.R702W mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte)

<i>Bakterielle Infektion</i>	<i>Total N=750</i>	<i>p.G908R-positiv N=23</i>	<i>p.G908R-negativ N=727</i>	<i>OR</i>	<i>95% KI</i>	<i>P-Wert</i>
Bakterielle Infektion (ja)	278 (37.1%)	7 (30.4%)	271 (37.3%)	0.74	0.30-1.81	0.66
Harnwegsinfektion (ja)	108 (14.4%)	1 (2.9%)	107 (14.7%)	0.26	0.04-1.98	0.23
Pulmonale Infektion (ja)	73 (9.7%)	2 (8.7%)	71 (9.8%)	0.88	0.20-3.83	1.00
SBP (ja)	58 (7.7%)	0 (0.0%)	58 (8.0%)	0.92	0.90-0.94	0.25
Sepsis (ja)	41 (5.5%)	1 (2.9%)	40 (5.5%)	0.78	0.10-5.94	1.00
Clostridium difficile-Kolitis (ja)	7 (0.9%)	0 (0.0%)	7 (1.0%)	0.99	0.98-1.00	1.00
Spontane Bakteriämie (ja)	23 (3.1%)	0 (0.0%)	23 (3.2%)	0.97	0.96-0.98	1.00
Infektion mit unbekanntem Fokus (ja)	25 (3.3%)	2 (8.7%)	25 (3.4%)	2.92	0.65-13.18	0.18
Sonstige Infektionen (ja)	84 (11.2%)	3 (13.0%)	81 (11.1%)	1.20	0.35-4.11	0.74

**Tabelle 12** Assoziation der Variante p.G908R mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte)

<i>Bakterielle Infektion</i>	<i>Total N=750</i>	<i>c.3020insC-positiv N=46</i>	<i>c.3020insC-negativ N=704</i>	<i>OR</i>	<i>95% KI</i>	<i>P-Wert</i>
Bakterielle Infektion (ja)	278 (37.1%)	22 (47.8%)	256 (36.4%)	1.60	0.88-2.92	0.16
Harnwegsinfektion (ja)	108 (14.4%)	11 (23.9%)	97 (13.8%)	1.97	0.97-4.00	0.08
Pulmonale Infektion (ja)	73 (9.7%)	11 (23.9%)	62 (8.8%)	3.25	1.58-6.73	<b>&lt;0.01</b>
SBP (ja)	58 (7.7%)	4 (8.7%)	54 (7.7%)	1.15	0.40-3.32	0.77
Sepsis (ja)	41 (5.5%)	2 (4.3%)	39 (5.5%)	0.78	0.18-3.32	1.00
Clostridium difficile-Kolitis (ja)	7 (0.9%)	0 (0.0%)	7 (1.0%)	0.99	0.98-1.00	1.00
Spontane Bakteriämie (ja)	23 (3.1%)	1 (2.2%)	22 (3.1%)	0.69	0.09-5.23	1.00
Infektion mit unbekanntem Fokus (ja)	25 (3.3%)	6 (13.0%)	19 (2.7%)	5.41	2.05-14.29	<b>&lt;0.01</b>
Sonstige Infektionen (ja)	84 (11.2%)	5 (10.9%)	79 (11.2%)	0.97	0.37-2.51	1.00

**Tabelle 13** Assoziation der Variante c.3020insC mit bakteriellen Infektionen (Gesamtkohorte)

Die Assoziation mit dem Vorhandensein einer *NOD2*-Variante war bei vor und/oder zum Studieneinschluss dekompenzierten Patienten ( $p=0.08$ , OR 1.47, 95% KI 0.98-2.2) deutlich weniger ausgeprägt als bei kompensierten Patienten ( $p=0.02$ , OR 2.77, 95% KI 1,26-6,12). Aufgrund dessen wurde die weitere Analyse nach dem Status

Kompensation/Dekompensation fortgeführt. Die Ergebnisse werden in den Tabellen 14 und 15 dargestellt.

<i>Bakterielle Infektionen bei dekompensierten Patienten</i>	<i>Total (N =544)</i>	<i>NOD2-positiv (N=121)</i>	<i>NOD2-negativ (N=423)</i>	<i>OR</i>	<i>95%-KI</i>	<i>P-Wert</i>
Bakterielle Infektion (ja)	243 (44.7%)	63 (52.1%)	180 (42.5%)	1.47	0.98-2.20	0.08
Harnwegsinfektion (ja)	86 (15.8%)	21 (17.4%)	65 (15.4%)	1.16	0.67-1.98	0.58
Pulmonale Infektion (ja)	69 (12.7%)	21 (17.4%)	48 (10.6%)	1.64	0.94-2.87	0.09
SBP (ja)	58 (10.7%)	15 (12.4%)	43 (10.2%)	1.25	0.67-2.34	0.51
Sepsis (ja)	37 (6.8%)	8 (6.6%)	29 (6.9%)	0.96	0.43-2.17	1.00
Clostridium difficile-Kolitis (ja)	6 (1.1%)	1 (0.8%)	5 (1.2%)	0.70	0.81-6.02	1.00
Infektion mit unbekanntem Fokus (ja)	22 (4.0%)	10 (8.3%)	12 (2.8%)	3.09	1.30-7.33	<b>0.02</b>
Spontane Bakteriämie (ja)	19 (3.5%)	5 (4.1%)	14 (3.3%)	1.26	0.44-3.57	0.59
Sonstige Infektionen (ja)	72 (13.2%)	18 (14.9%)	54 (12.8%)	1.19	0.67-2.13	0.55

**Tabelle 14** Assoziation einer *NOD2*-Mutation mit bakteriellen Infektionen bei dekompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte)

<i>Bakterielle Infektionen bei kompensierten Patienten</i>	<i>Total (N=206)</i>	<i>NOD2-positiv (N=43)</i>	<i>NOD2-negativ (N=163)</i>	<i>OR</i>	<i>95%-KI</i>	<i>P-Wert</i>
Bakterielle Infektion (ja)	35 (17.0%)	13 (30.2%)	22 (13.5%)	2.78	1.26-6.12	<b>0.02</b>
Harnwegsinfektion (ja)	22 (10.7%)	6 (14.0%)	16 (9.8%)	1.50	0.55-4.07	0.42
Pulmonale Infektion (ja)	4 (1.9%)	1 (2.3%)	3 (1.8%)	1.27	0.13-12.52	1.00
Sepsis (ja)	4 (1.9%)	2 (4.7%)	2 (1.2%)	3.93	0.54-28.72	0.19
Clostridium difficile-Kolitis (ja)	1 (0.5%)	1 (1.3%)	0 (0%)	0.21	0.16-0.27	0.21
Infektion mit unbekanntem Fokus (ja)	3 (1.5%)	1 (2.3%)	2 (1.2%)	1.92	0.17-21.65	0.51
Spontane Bakteriämie (ja)	4 (1.9%)	2 (4.1%)	2 (3.3%)	3.93	0.54-28.72	0.19
Sonstige Infektionen (ja)	12 (5.8%)	5 (11.6%)	7 (4.3%)	2.93	0.88-9.75	0.13

**Tabelle 15** Assoziation einer *NOD2*-Mutation mit bakteriellen Infektionen bei kompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte)

### 4.3.1 Bakterielle Infektionen bei kompensierten Patienten

Aufgrund der geringen Häufigkeit von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (n = 35) wurden univariate Analysen zu weiteren Prädiktoren neben einer *NOD2*-Mutation durchgeführt. Diese sind Tabelle 16 zu entnehmen.

<i>Parameter</i>	<i>Bakterielle Infektion (N=35)</i>	<i>keine bakterielle Infektion (N=171)</i>	<i>P-Wert</i>
Alter (Jahre)	65.0 (57.0-74.0)	60.0 (52.0-68.0)	0.09
MELD	7.97 (6.5-9.8)	8.28 (7.2-9.6)	0.34
<i>NOD2</i> -Mutation (ja)	13 (37.1%)	30 (17.5%)	<b>0.01</b>
Geschlecht (männlich)	20 (57.1%)	115 (67.3%)	0.17
Diabetes mellitus (ja)	16 (45.7%)	56 (32.7%)	0.10
Alkoholische Zirrhose	14 (40.0%)	47 (27.4%)	0.10
Lebersteifigkeitsmessung (kPa)	36.6 (17.3-48.6)	21.2 (16.6-30.10)	<b>&lt;0.01</b>
Milzgröße (cm)	13.55 (11.9-15.3)	12.0 (10.7-13.7)	<b>0.05</b>
LSPS	2.46 (1.5-4.8)	1.61 (1.1-3.5)	0.36
HPVG (mmHg)	18.00 (5.5-23.0)	13.00 (7.0-20.5)	0.71
CSPH (yes)	19 (79.2%)	55 (47.8%)	<b>0.02</b>
Natrium (mmol/l)	139.8 (139.0-142.0)	139.7(138.0-142.0)	0.80
Kreatinin (mg/l)	0.83 (0.71-0.99)	0.84(0.72-0.96)	0.93
Bilirubin (mg/dl)	0.88 (0.40-1.14)	0.7 (0.50-1.10)	0.67
ASAT (U/l)	44 (28.60-58.50)	45.5 (31.25-78.00)	0.23
ALAT (U/l)	38 (25.00-45.00)	45.5 (31.25-78.00)	0.17
CRP (mg/dl)	5 (1.93-15.92)	2.2 (0.80-5.30)	0.74
Albumin (g/l)	38 (33.0-42.2)	42 (38.0-45.0)	<b>&lt;0.01</b>
Hämoglobin (g/dl)	12.9 (11.6-13.8)	14.2 (12.6-15.3)	<b>&lt;0.01</b>
Thrombozyten (x10 <sup>9</sup> )	193(134-246)	149 (99-198)	<b>&lt;0.01</b>

			Ergebnisse
Leukozyten (x10 <sup>9</sup> )	5.9 (4.9-7.5)	6.3 (4.8-8.2)	0.91
INR	1.08 (1.0-1.2)	1.1 (1.0-1.2)	0.34
PTT (s)	29.2 (26.0-34.0)	28 (26.0-31.0)	<b>0.05</b>

**Tabelle 16** Univariate Analyse der Prädiktoren bakterieller Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte)

Dies belegt, dass auch die Messung der Lebersteifigkeit, Milzgröße und CSPH, die im Zusammenhang mit portaler Hypertension stehen, sowie auch Albumin-, Hämoglobin-, Thrombozyten- und PTT-Spiegel, die mit der Leberfunktion vergesellschaftet sind, das Auftreten von bakteriellen Infektionen beeinflussen.

Anschließend wurden verschiedene multivariate Modelle zur Beurteilung der möglichen Prädiktoren konstruiert. Durch Berechnung der Informationskriterien AIC, cAIC und BIC konnte das aussagekräftigste Modell bestimmt werden. Wie Tabelle 17 entnehmen ist, erreichte das Modell mit den Variablen *NOD2*-Mutation (OR 5.25, 95% KI 1.73-15.90) und CSPH (OR 3.85, 95% KI 1.24-11.95) die geringsten Werte (AIC 18.5, cAIC 18.6, BIC 27.2) bei den verschiedenen Informationskriterien und somit können diese beiden Variablen als beste unabhängige Prädiktoren für bakterielle Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose angesehen werden.

Eingeführte Variablen	N=	Endgültiges Modell	OR	95% KI	P-Wert	AIC	AICc	BIC
<i>NOD2</i> , CSPH	135	<i>NOD2</i> CSPH	5.25 3.85	1.73-15.90 1.24-11.95	0.01 0.02	18.5	18.6	27.2
<i>NOD2</i> , Albumin	197	<i>NOD2</i> Albumin	2.38 0.92	1.04-5.49 0.86-0.98	0.04 0.01	124.8	124.9	134.7
<i>NOD2</i> , Thrombozyten	202	<i>NOD2</i> Thrombozyten	2.96 1.01	1.29-6.78 1.01-1.01	0.01 <0.01	160.7	160.8	170.7
<i>NOD2</i> , Milzgröße	182	<i>NOD2</i> Milzgröße	2.74 1.18	1.12-6.69 1.00-1.38	0.03 0.05	130.8	130.8	140.4
<i>NOD2</i> , Hb	203	<i>NOD2</i> Hb	2.61 0.76	1.15-5.97 0.64-0.91	0.02 <0.01	149.3	149.3	159.2
<i>NOD2</i> , PTT	198	<i>NOD2</i> PTT	3.09 1.10	1.35-7.03 1.02-1.18	<0.01 0.01	108.3	108.3	118.1
<i>NOD2</i> , Albumin, Hb	197	<i>NOD2</i> Albumin Hb	2.40 0.95 0.81	1.03-5.58 0.89-1.03 0.66-0.99	0.04 0.20 0.04	171.5	171.6	184.6
<i>NOD2</i> , Albumin, PTT	194	<i>NOD2</i> Albumin PTT	2.64 0.94 1.08	1.11-6.25 0.88-1.00 1.01-1.16	0.03 0.04 0.04	160.2	160.3	173.2
<i>NOD2</i> , Albumin, Thrombozyten	196	<i>NOD2</i> Albumin Thrombozyten	2.16 0.90 1.01	0.89-5.22 0.84-0.97 1.00-1.01	0.09 <0.01 <0.01	166.5	166.6	179.6

**Tabelle 17** Multivariate Analyse zur Bestimmung unabhängiger Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose

So war bei Patienten mit vorhandener CSPH-Einschätzung (n= 489) der Effekt einer *NOD2*-Mutation auf das Auftreten von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit CSPH (n=389, OR 1.74, 95% KI 1.07-2.85) geringer als bei Patienten ohne CSPH (n=100, OR 2.76, 95% KI 0.88-7.84). Daraufhin wurde die Gruppe der Patienten mit vorhandener CSPH-Einschätzung mit der Gruppe ohne CSPH-Einschätzung verglichen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 18 zu sehen. Es fielen deutliche Unterschiede in Bezug auf Blutwerte auf, die in Zusammenhang mit der Leberfunktion stehen, beispielsweise Bilirubin. Zudem sah man erhöhte Werte im MELD-Score und der Lebersteifigkeitsmessung. Dies lässt vermuten, dass die Gruppe mit CSPH-Einschätzung an einer fortgeschritteneren Erkrankung litt als die Gruppe ohne CSPH-Einschätzung.

<i>Parameter</i>	<i>CSPH-Einschätzung</i>	<i>Keine CSPH-Einschätzung</i>	<i>P-Wert</i>
Alter (Jahre)	60.5 (±10.7)	60.0 (±11.9)	0.70
MELD	12.7 (±5.7)	9.8 (±4.0)	<b>&lt;0.01</b>
Lebersteifigkeitsmessung (kPa)	47.0 (±20.0)	19.2 (±7.7)	<b>&lt;0.01</b>
Milzgröße (cm)	13.8 (±2.5)	11.3 (±1.9)	<b>&lt;0.01</b>
Albumin (g/l)	34.9 (±6.9)	41.0 (±6.19)	<b>&lt;0.01</b>
Bilirubin (mg/dl)	2.6 (±4.1)	1.2 (±1.8)	<b>&lt;0.01</b>
ASAT (U/l)	61.3 (±54.6)	58.6 (±51.2)	0.71
ALAT (U/l)	50.3 (±105.6)	74.1 (±125.0)	0.06
Hämoglobin (g/dl)	11.7 (±2.4)	13.6 (±2.2)	<b>&lt;0.01</b>
Thrombozyten (x10 <sup>9</sup> )	130.0 (±70.6)	214.8 (±109.1)	<b>&lt;0.01</b>
Quick (%)	70.0 (±19.6)	83.9 (±18.8)	<b>&lt;0.01</b>
PTT (sek)	32.6 (±7.8)	27.7 (±4.4)	<b>&lt;0.01</b>

**Tabelle 18** Vergleich der Patienten mit und ohne vorhandene CSPH-Einschätzung (Mittelwert und Standardabweichung)

Infolgedessen wurde die Berechnung aller Modelle nochmals für die Gruppe der Patienten mit einer CSPH-Messung wiederholt, was in Tabelle 19 zu sehen ist. Auch in dieser Untergruppe kam es zu denselben Ergebnissen, sodass das Modell bestehend

aus CSPH und *NOD2*-Mutation als der beste unabhängige Prädiktor für bakterielle Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose gilt.

Eingeführte Variablen	N=	Endgültiges Modell	OR	95% KI	P-Wert	AIC	AICc	BIC
<i>NOD2</i> , CSPH	135	<i>NOD2</i>	5.3	1.7-16.0	<0.01	18.5	18.6	27.2
		CSPH	3.9	1.2-12.0	0.02			
<i>NOD2</i> , Albumin	134	<i>NOD2</i>	4.3	1.5-12.6	<0.01	76.7	76.8	85.4
		Albumin	0.9	0.8-1.0	0.03			
<i>NOD2</i> , Thrombozyten	135	<i>NOD2</i>	4.2	1.5-12.1	<0.01	103.0	103.1	111.8
		Thrombozyten	1.0	1.0-1.0	0.27			
<i>NOD2</i> , Milzgröße	134	<i>NOD2</i>	5.0	1.7-14.6	<0.01	98.2	98.3	106.8
		Milzgröße	1.2	1.0-1.4	0.09			
<i>NOD2</i> , Hb	135	<i>NOD2</i>	4.7	1.5-14.6	<0.01	86.4	86.5	95.1
		Hb	0.6	0.5-0.8	<0.01			
<i>NOD2</i> , PTT	134	<i>NOD2</i>	5.1	1.7-15.2	<0.01	64.1	64.2	72.8
		PTT	1.1	1.0-1.2	0.03			
<i>NOD2</i> , Albumin, Hb	134	<i>NOD2</i>	4.6	1.5-14.3	<0.01	98.2	98.4	109.8
		Albumin	1.9	0.9-1.1	0.47			
		Hb	0.7	0.5-0.9	<0.01			
<i>NOD2</i> , Albumin, PTT	133	<i>NOD2</i>	4.8	1.6-14.6	<0.01	99.0	99.2	110.6
		Albumin	0.9	0.8-1.0	0.08			
		PTT	1.1	1.0-1.2	<0.01			
<i>NOD2</i> , Albumin, Thrombozyten	134	<i>NOD2</i>	4.0	1.3-11.8	0.01	106.6	106.8	118.2
		Albumin	0.9	0.8-1.0	0.02			
		Thrombozyten	1.0	1.0-1.0	0.11			

**Tabelle 19** Multivariate Analyse zur Bestimmung unabhängiger Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit kompensierter Leberzirrhose und vorhandener CSPH-Einschätzung

#### 4.3.2 Bakterielle Infektionen bei dekompenzierten Patienten

Anschließend wurden univariate Analysen zu möglichen Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit dekompenzierter Leberzirrhose durchgeführt, die in der folgenden Tabelle zu sehen sind. Genau wie bei den kompensierten Patienten wurden die Spiegel von PTT, Hämoglobin, Albumin sowie die Milzgröße als mögliche Prädiktoren identifiziert. Zusätzlich dazu zeigten verschiedene Ausprägungen der Dekompensation, also HE, Aszites und Ikterus signifikante Ergebnisse, genau wie die Entzündungsparameter CRP und Leukozyten und weitere Blutwerte (Bilirubin, Kreatinin und INR). Alle Ergebnisse sind in Tabelle 20 zu sehen.

Parameter	Bakterielle Infektion (N=243)	Keine bakterielle Infektion (N=301)	P-Wert
Alter (Jahre)	61 (53.00-67.00)	60.0 (54.00-68.00)	0.84
MELD	12.71 (9.50-17.08)	11.53 (8.75-14.85)	<b>&lt;0.01</b>
<i>NOD2</i> Mutation (ja)	63 (25.9%)	58 (19.2%)	<b>0.04</b>

			Ergebnisse
Geschlecht (männlich)	164 (67.5%)	188 (62.5%)	0.13
Diabetes mellitus Typ 2 (ja)	72 (29.6%)	81 (26.9%)	0.27
Alkoholische Zirrhose	165 (67.9%)	189 (62.8%)	0.12
HE (ja)	83 (34.2%)	61 (20.3%)	<b>&lt;0.01</b>
Aszites (ja)	215 (88.5%)	252 (83.7%)	<b>&lt;0.01</b>
Ikterus (ja)	128 (52.7%)	100 (33.2%)	<b>&lt;0.01</b>
Lebersteifigkeitsmessung (kPa)	41.56 (23.53-64.88)	45.7 (26.15-66.75)	0.70
Milzgröße (cm)	13.7 (11.73-15.38)	13.0 (11.4-14.80)	<b>&lt;0.01</b>
LSPS	4.89 (2.14-8.64)	4.29 (2.48-7.30)	0.05
HPVG (mmHg)	19.00 (15.00-23.00)	19.00 (16.00-22.00)	0.75
CSPH (ja)	147 (89.1%)	172 (91.0%)	0.34
Natrium (mmol/l)	138.0 (134.75-140.00)	138.0 (135.00-140.00)	0.15
Kreatinin (mg/l)	1.05 (0.79-1.33)	0.96 (0.76-1.24)	<b>&lt;0.01</b>
Bilirubin (mg/dl)	1.41 (0.81-2.90)	1.3 (0.80-2.42)	<b>0.03</b>
ASAT (U/l)	45.0 (32.00-69.90)	45.0 (32.20-67.80)	0.39
ALAT (U/l)	28.6 (19.80-41.30)	30.8 (21.45-44.10)	0.57
CRP (mg/dl)	11.3 (3.50-35.30)	6.9 (2.58-19.23)	<b>&lt;0.01</b>
Albumin (g/l)	33.0 (28.00-39.60)	35.0 (30.00-39.26)	<b>&lt;0.01</b>
Hämoglobin (g/dl)	11.0 (9.18-13.40)	11.8 (10.10-13.69)	<b>&lt;0.01</b>
Thrombozyten (x10 <sup>9</sup> )	122 (84-185)	132 (87-196)	0.95
Leukozyten (x10 <sup>9</sup> )	6.4 (4.40-9.04)	6.2 (4.40-7.80)	<b>&lt;0.01</b>
INR	1.26 (1.11-1.44)	1.20 (1.10-1.37)	<b>&lt;0.01</b>
PTT	32.0 (29.00-38.00)	31.0 (28.00-35.50)	<b>&lt;0.01</b>

**Tabelle 20** Univariate Prädiktoren der bakteriellen Infektionen bei dekompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte)

Anschließend wurden in der multivariaten Analyse verschiedene Modelle konstruiert, um, wie oben erwähnt, sowohl Kollinearität als auch den Einschluss von Variablen zu

vermeiden, die natürlicherweise mit dem Auftreten von bakteriellen Infektionen verbunden sind. Das beste Modell in Assoziation mit bakteriellen Infektionen war hier eine Kombination aus Vorhandenseiner einer *NOD2*-Variante, Milzgröße, Kreatinin-Wert, Hämoglobin-Wert und dem Auftreten einer HE.

Eingeführte Variablen	N=	Endgültiges Modell	OR	95% KI	P-Wert	AIC	AICc	BIC
<i>NOD2</i> , LSPS, Milzgröße, Kreatinin, Bilirubin, Albumin, Hb, INR, PTT, MELD, HE, Aszites, Ikterus	240	<i>NOD2</i>	2.5	1.27-5.02	0.01	310.7	311.1	352.4
		Milzgröße	1.2	1.20-1.37	<0.01			
		Kreatinin	1.5	0.87-2.52	0.15			
		Hb	0.9	0.76-0.99	0.03			
		HE	2.0	1.06-3.92	0.03			
		Ikterus	2.2	1.24-3.88	0.01			
<i>NOD2</i> , Milzgröße, Kreatinin, Bilirubin, Albumin, Hb, INR, PTT, MELD, HE, Aszites, Ikterus	410	<i>NOD2</i>	1.9	1.1-3.1	0.02	518.0	518.3	570.2
		Milzgröße	1.1	1.0-1.2	<0.01			
		Kreatinin	1.6	1.1-2.4	0.02			
		Albumin	1.0	0.9-1.0	0.09			
		Hb	0.9	0.8-1.0	<0.01			
		HE	1.5	0.9-2.5	0.09			
<i>NOD2</i> , LSPS, Milzgröße, Albumin, Hb, MELD, HE, Aszites, Ikterus	258	<i>NOD2</i>	2.8	1.4-5.5	<0.01	325.7	325.9	361.3
		Milzgröße	1.2	1.1-1.4	<0.01			
		Hb	0.8	0.7-0.9	<0.01			
		HE	1.9	1.0-3.6	0.05			
		Ikterus	2.3	1.4-4.0	<0.01			
<i>NOD2</i> , Milzgröße, Albumin, Hb, MELD, HE, Aszites, Ikterus	470	<i>NOD2</i>	1.7	1.1-2.7	0.03	601.1	601.3	638.4
		Milzgröße	1.1	1.0-1.2	<0.01			
		Albumin	1.0	0.9-1.0	0.05			
		Hb	0.8	0.8-0.9	<0.01			
		HE	1.5	1.0-2.3	0.09			
<i>NOD2</i> , LSPS, Milzgröße, Albumin, Hb, Bilirubin, INR, Kreatinin, HE, Aszites, Ikterus	258	<i>NOD2</i>	2.8	1.4-5.5	<0.01	327.1	327.3	369.7
		Milzgröße	1.2	1.1-1.4	<0.01			
		Hb	0.8	0.7-0.9	<0.01			
		HE	1.9	1.0-3.6	0.05			
		Ikterus	2.3	1.4-4.0	<0.01			
<i>NOD2</i> , Milzgröße, Albumin, Hb, Bilirubin, INR, Kreatinin, HE, Aszites, Ikterus	470	<i>NOD2</i>	1.7	1.0-2.7	0.03	594.6	594.8	640.3
		Milzgröße	1.1	1.0-1.2	<0.01			
		Albumin	1.0	0.9-1.0	0.05			
		Hb	0.9	0.8-1.0	<0.01			
		Kreatinin	1.6	1.1-2.3	<0.01			
		HE	1.5	1.0-2.3	0.09			
Ikterus	2.0	1.4-3.0	<0.01					

**Tabelle 21** Multivariate Analyse zur Bestimmung unabhängiger Prädiktoren von bakteriellen Infektionen bei Patienten mit dekompensierter Leberzirrhose (Gesamtkohorte).

## 5 Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit konnte, wie auch schon in vorherigen Arbeiten (126,127), ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer *NOD2*-Variante und bakteriellen Infektionen bei Patienten mit Leberzirrhose nachgewiesen werden. Dieser Effekt wird insbesondere im frühen Stadium der kompensierten Zirrhose deutlich. So erhöht eine *NOD2*-Variante bei Patienten mit kompensierter Zirrhose das Infektionsrisiko annähernd auf das Dreifache, während im dekompenzierten Stadium das Risiko nur 1,5-fach erhöht wird. Zusammenfassend hat also eine *NOD2*-Variante bei kompensierter Zirrhose einen größeren Einfluss auf das Auftreten von bakteriellen Infektionen als im dekompenzierten Stadium. Als weiterer unabhängiger Prädiktor für bakterielle Infektionen bei kompensierten Patienten zeigte sich zudem das Vorhandensein von CSPH. Im Gegensatz dazu spielen bei der dekompenzierten Zirrhose viele mit Leberversagen assoziierte Parameter, wie Ikterus oder HE, eine Rolle.

### 5.2 Studienlage zu bakteriellen Infektionen bei *NOD2*-Mutation bei Leberzirrhose

#### 5.2.1 Nicht-SBP-Infektionen und *NOD2*

Die vorliegende Arbeit ist die erste Studie, die die Assoziation bakterieller Infektionen mit dem Vorliegen einer *NOD2*-Variante stadienabhängig bei kompensierter und dekompenzierter Leberzirrhose einschließlich einer Beurteilung der portalen Hypertension untersucht. In einer aktuellen Studie von Dinya et al. (126), die diesen Zusammenhang ebenfalls untersuchte, allerdings ohne Bestimmung der portalen Hypertension und ohne Unterscheidung von kompensierter und dekompenzierter Zirrhose, gelang dies nicht. Hierbei konnte ein Trend in der Kaplan-Meyer-Kurve erfasst werden, jedoch kein signifikanter Unterschied. In Tabelle 22 ist ein Vergleich der vorliegenden Arbeit mit der Studie von Dinya et al. zu sehen. Die beiden Studien haben in Bezug auf MELD-Score und CPS ein ähnliches Patientenkollektiv. Ebenso ist der Anteil an Patienten mit stattgehabter bakterieller Infektion etwa gleich groß. Größere Unterschiede gibt es in der Kollektivgröße sowie im Anteil der dekompenzierten Patienten. Dieser liegt in unserer Arbeit bei 72%, bei Dinya et al. bei 50%, wobei die Dekompensation dort definiert war als Auftreten von größeren Aszitesmengen, HE, Ösophagusvarizenblutung oder einer bakteriellen Infektion. So ging bei Dinya et al. das Auftreten einer bakteriellen Infektion als Ausprägung einer Dekompensation in die Auswertung mit ein, nicht aber Ikterus, wie in den aktuellen Leitlinien empfohlen (128). Bei einem durchschnittlichen Bilirubinwert von 1.5 mg/dl im Vergleich zu 1.2 mg/dl in der

vorliegenden Arbeit, hätte sich die Zahl der Dekompensationen mutmaßlich erhöht. Zudem ist zu beachten, dass in der Arbeit von Dinya et al. kein Vergleich des Auftretens bakterieller Infektionen bei Patienten mit kompensierter und dekompensierter Zirrhose möglich war, da alle Patienten mit bakterieller Infektion als dekompensiert gewertet wurden.

<i>Parameter</i>	<i>Dinya et al. (126)</i>	<i>Kollektiv Homburg/Halle</i>
Kollektivgröße	349	750
Alter (Jahre)	56 (50-63)	61 (53-68)
Geschlecht (männlich)	127 (52.3%)	487 (64.9%)
MELD-Score	11 (8-14)	10.8 (8.3-14.9)
CPS A	137 (56.4%)	400 (55.0%)
CPS B	92 (37.9%)	289 (39.8%)
CPS C	14 (5.8%)	38 (5.2%)
Bakterielle Infektion	94 (38.7%)	278 (37.1%)
Dekompensation	122 (50.2%)	544 (72.5%)
Bilirubin (mg/dl)	1.5 (0.9-2.4)	1.2 (0.7-2.2)

**Table 22** Vergleich der Arbeit von Dinya et al. (126) mit der vorliegenden Studie

Reichert et al. veröffentlichten aus einem Teil der vorliegenden Daten ein Paper zum Thema bakterielle Infektionen bei Patienten mit *NOD2*-Mutation und Leberzirrhose (127). Ausgeschlossen wurden zusätzlich zu den Kriterien der vorliegenden Arbeit Patienten mit Infektionen mit unklarem Fokus. Auch in dieser Publikation zeigten sich *NOD2*-Varianten als Risikofaktoren für bakterielle Infektionen bei Patienten mit Leberzirrhose. Der Unterschied der Risikoerhöhung bei kompensierten und dekompensierten Patienten zeigte sich deutlicher als in der vorliegenden Arbeit. So ergab sich bei kompensierter Leberzirrhose und *NOD2*-Mutation eine Erhöhung des Risikos auf nahezu das Fünffache (OR= 4.79, 95% KI 1.51–15.18). Bei dekompensierter Leberzirrhose zeigte sich keine signifikante Erhöhung des Risikos für bakterielle Infektionen ( $p=0.11$ ) (127).

### 5.2.2 SBP und *NOD2*

Vorherige Studien fokussierten die Rolle einer *NOD2*-Mutation bei der Entstehung einer SBP mit kontroversen Ergebnissen. So wurde bei Dinya et al. und Appenrodt et al. ein

signifikanter Zusammenhang zwischen *NOD2*-Mutation und Auftreten einer SBP gezeigt (105,126). Bei Bruns et al. wurde eine Assoziation von *NOD2*-Mutation und SBP mit positiver Bakterienkultur nachgewiesen (106). Bei Harputluoglu et al. gelang dieser Nachweis nicht, wenngleich vermehrtes Auftreten von bakterieller DNA im Aszites von Patienten mit p.G908R-Mutation nachgewiesen werden konnte (98). In unserer Kohorte konnte eine Assoziation von *NOD2*-Variante und SBP nicht bestätigt werden (siehe Tabellen 9-13).

### **5.3 Kompensierte und dekompenzierte Zirrhose: Grundsätzlich verschiedene Stadien der Leberzirrhose**

Wie oben beschrieben, stellen die kompensierte und die dekompenzierte Zirrhose grundsätzlich verschiedene Stadien mit sehr unterschiedlicher Prognose dar (22). So besteht auch ein deutlicher Unterschied in der Relevanz der Mechanismen, die den Verlauf der Leberzirrhose bestimmen. Bei der kompensierten Zirrhose ist die portale Hypertension von großer Bedeutung für das Fortschreiten der Erkrankung. So zeigten Ripoll et al. bei 213 Patienten mit kompensierter Zirrhose und einem Ergebnis der HVP-G-Messung von weniger als 10 mmHg ein Risiko für Dekompensation innerhalb von 4 Jahren von unter 10% (58,129). Bei der dekompenzierten Zirrhose stellte der MELD-Score den stärksten Prädiktor für den Progress der Erkrankung dar (22). Die vorliegende Arbeit bestätigt diese Beobachtungen.

Die Tatsache, dass der Effekt einer *NOD2*-Mutation auf die Anfälligkeit für bakterielle Infektionen bei kompensierter Zirrhose größer ist als bei dekompenzierter Zirrhose, war unvorhergesehen. Eine mögliche Erklärung könnte in der Entwicklung einer pathologisch durchlässigen Darmwand bei fortgeschrittener Zirrhose mit zunehmender portaler Hypertension liegen. Verschiedene Studien zeigen eine signifikant erhöhte intestinale Permeabilität bei Patienten mit CSPH (130–133). So stellten Cariello et al. eine Steigerung der intestinalen Permeabilität bei zunehmendem Grad der portalen Hypertension dar (131). In einer klinischen Studie von Hu et al. wurde eine Abnahme der portalen Hypertension und intestinalen Permeabilität bei Kombination von TIPS-Anlage und modifiziertem Sugiura-Verfahren, einer Devaskularisierungsoperation bei Ösophagusvarizenblutung (134), beschrieben (133). Senzolo et al. dokumentierten eine Abnahme der intestinalen Permeabilität bei oraler Propanolol-Therapie (132).

So kann vermutet werden, dass durch diese pathologische Durchlässigkeit bei portaler Hypertension das Ausmaß der Prädisposition für bakterielle Infektionen, die bereits durch eine *NOD2*-Mutation entsteht, deutlich verringert wird. Der Umstand, dass der *NOD2*-Effekt in der vorliegenden Arbeit bei Patienten ohne eine CSPH deutlicher ausgeprägt war, unterstützt diese Hypothese.

## 5.4 Bedeutung von bakteriellen Infektionen und systemischer Inflammation für die Prognose der Leberzirrhose

Es ist bekannt, dass bakterielle Infekte die Prognose bei Patienten mit Leberzirrhose deutlich verschlechtern (39,135). So gibt es Überlegungen in Bezug auf die Definition der bakteriellen Infektion als ein eigenes Stadium der Zirrhose oder als ein Dekompensation-definierendes-Ereignis (35,37).

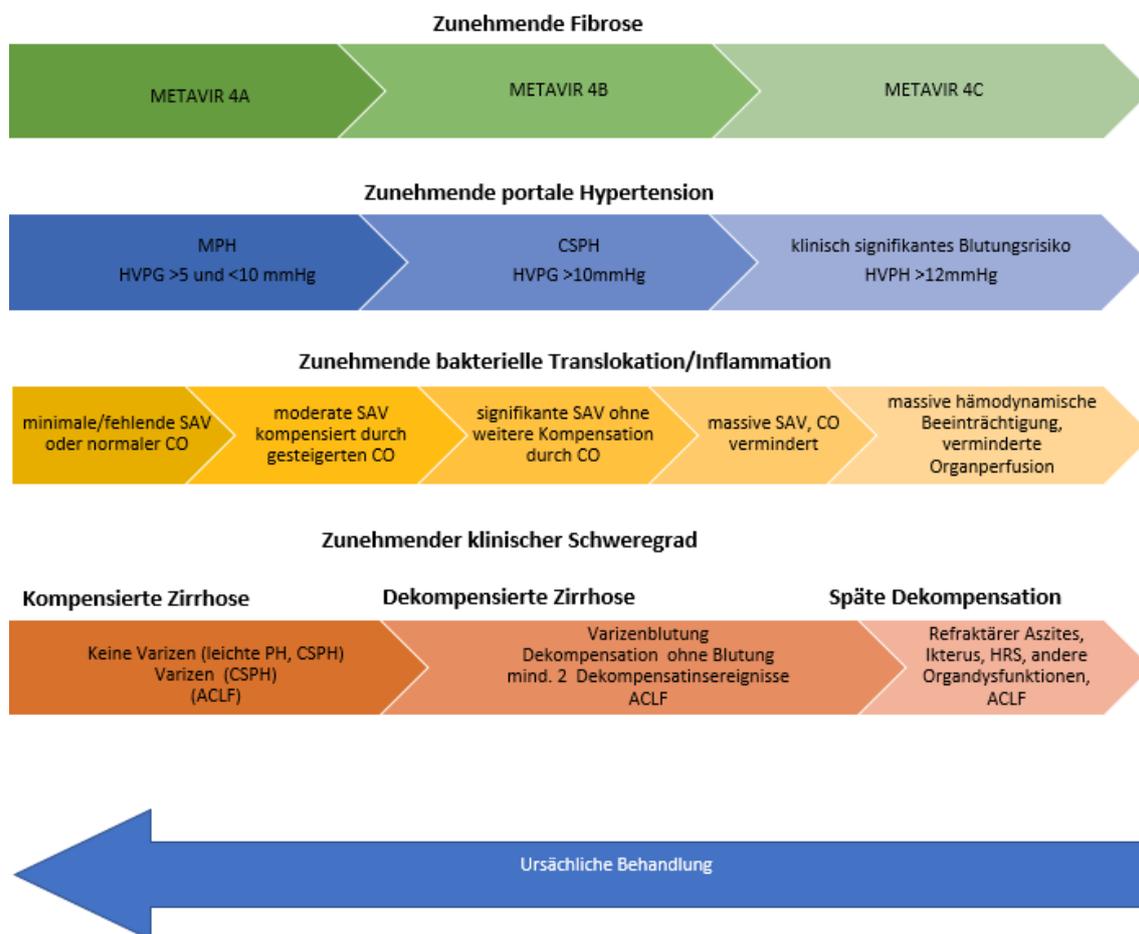
Auch die Bedeutung der systemischen Inflammation bei Leberzirrhose wird in bestehenden Hypothesen zur Pathogenese der Dekompensation deutlich. So wurde die „Peripheral Arterial Vasodilatation Hypothesis“ (PAVH) zur „Systemic Inflammation Hypothesis“ (SIH) erweitert. Bei der PAVH aus dem Jahr 1988 geht es im Wesentlichen darum, dass progressive viszerale arterielle Vasodilatation (splanchnic arteriolar vasodilatation, SAV) zu viszeralen und systemischen hämodynamischen Abnormalitäten führt. So resultiert ein erhöhter portalvenöser Fluss in portaler Hypertension mit Aszites. Zudem kommt es durch die Vasodilatation zu einer Abnahme des arteriellen Drucks, was zu einer effektiven Hypovolämie führt. Bei der kompensierten Zirrhose wird dies durch ein erhöhtes Plasmavolumen sowie Vergrößerung des Herzzeitvolumens (cardiac output, CO) ausgeglichen. Bei dekompensierter Zirrhose ist dies nicht mehr möglich. Durch renale Natrium- und Wasserretention entsteht Aszites. Refraktärer Aszites und das hepatorenale Syndrom werden als extreme Manifestationen dieses Prozesses angesehen (136,137). Auf diese Hypothese folgten zahlreiche weitere Forschungsarbeiten mit Entwicklung von therapeutischen Möglichkeiten bei dekompensierter Zirrhose, wie die intravenöse Albumingabe bei Aszites (138). Es gibt auch vermehrt Hinweise darauf, dass der therapeutische Effekt einer Albumingabe nicht alleine der Wirkung als Plasmaexpander zu verdanken ist, sondern auch einer antiinflammatorischen Wirkung durch Bindung der proinflammatorischen Moleküle (139–142). Dies passt zur im Folgenden beschriebenen Ausweitung der PAVH zur SIH um die Bedeutung der systemischen Inflammation bei der dekompensierten Leberzirrhose.

Die SIH aus dem Jahr 2015 erweitert die PAVH um den Aspekt, dass die bakterielle Translokation mit der folgenden Bindung von PAMPs durch PRRs mit anschließender Freisetzung von proinflammatorischen Zyto- und Chemokinen zu systemischer Inflammation führt. Bakterielle Translokation mit nachfolgender systemischer Inflammation wird zusammen mit viszeraler arterieller Vasodilatation als Ursprung der Dekompensation diskutiert (137).

Die prognostische Bedeutung der systemischen Inflammation zeigt sich auch beim akut-auf-chronischen Leberversagen [Acute-on-chronic-liver-failure (ACLF)]. Dieses wurde im Jahr 2013 definiert. Es ist charakterisiert durch eine akute Dekompensation mit Organversagen und ist damit einhergehend mit einer hohen 28-Tages-Mortalität vergesellschaftet. Auslöser sind häufig bakterielle Infektionen oder ein aktiver

Alkoholismus (36,143). Eine überschießende Entzündungsreaktion scheint eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung eines ACLF zu spielen (144). So zeigten auch Claría et al. im Gegensatz zur akuten Dekompensation signifikant erhöhte Spiegel von inflammatorischen Zytokinen bei ACLF, wodurch sowohl die prognostische Bedeutung der systemischen Inflammation als auch die SIH untermauert wird (143).

Die Bedeutung von bakterieller Translokation, Inflammation und portaler Hypertension für die klinischen Stadien der Leberzirrhose wird in der folgenden Abbildung aus einer Arbeit von D'Amico et al. (145) aus dem Jahr 2018 sehr übersichtlich dargestellt. Aufgrund des variablen Wechselspiels der verschiedenen pathophysiologischen Mechanismen erfolgt das Fortschreiten der Erkrankung nicht nach einer vorhersehbaren Reihenfolge. So propagieren D'Amico et al. einen mehrstufigen Ansatz für eine realistischere Beschreibung des Krankheitsverlaufs (145).



**Abbildung 10** Schematische Darstellung zur Progression von pathophysiologischen Mechanismen, hämodynamischen und klinischen Ausprägungen der Leberzirrhose im Verlauf der Erkrankung (145); METAVIR 4 A,B,C: Unterstufen des METAVIR-Fibrose-Stadiums 4 (146) nach Septumstärke und Größe der Noduli; CO: Herzzeitvolumen (cardiac output); SAV: viszerale arterielle Vasodilatation (splanchnic arterial vasodilatation)

Wie in vorhergehenden Studien gezeigt wurde (35,39), bestätigen auch die vorliegenden Daten, dass das Auftreten von bakteriellen Infektionen mit dem Grad der Leberschädigung (abgebildet durch MELD-Score, Lebersteifigkeit, Serumalbumin und

PTT) und dem Auftreten von Komplikationen (wie Aszites, HE und Ikterus sowie Zeichen der portalen Hypertension wie CSPH oder Milzgröße) assoziiert ist.

Eine Mutation im *NOD2*-Gen kann auch unabhängig von einer Leberzirrhose das Auftreten bakterieller Infektionen begünstigen (88,93,147). Obwohl das Vorliegen einer *NOD2*-Mutation mit vermehrter bakterieller Translokation (80) und überschießender Immunreaktion assoziiert zu sein scheint (104,148), konnte in der vorliegenden Arbeit keine Häufung von *NOD2*-Mutationen bei Patienten mit dekompensierter Zirrhose gezeigt werden. Dies mag zunächst widersinnig erscheinen. Hier hatten jedoch frühere Arbeiten gezeigt, dass bakterielle Translokation an mesenterialen Lymphknoten bei Zirrhose weitgehend vom Ausmaß der Leberinsuffizienz abhängt (80,149). Cirera et al. zeigten den Child-Pugh-Score als einzigen unabhängigen Prädiktor für bakterielle Translokation (150). So kann vermutet werden, dass sterile Entzündungen bei der Entwicklung weiterer Dekompensationsereignisse eher relevant sein könnten als die erste Dekompensation bei zuvor kompensierten Patienten.

## 5.5 Limitationen der Studie

Eine Limitation der Studie stellt das retrospektive Studiendesign dar, welches insbesondere die Identifikation der bakteriellen Infektionen betrifft. Um den Effekt dieses Aspekts zu verringern, wurden strenge Definitionen für die Identifikation der bakteriellen Infektionen verwendet. Darüber hinaus wurden die digitalen Patientenakten systematisch auf mikrobiologische Untersuchungsergebnisse sowie weitere entsprechende Befunde überprüft.

Mit dem retrospektiven Studiendesign geht auch die Erinnerungsverzerrung (Recall Bias) einher, die eine Verzerrung des Studienergebnisses durch falsche Erinnerung der Teilnehmer bei retrospektiven Studien beschreibt (151). In der vorliegenden Arbeit wurden bakterielle Infektionen sowie Dekompensationen der Leberzirrhose anhand genauer Definitionen erfasst. Jedoch sind Aufenthalte in weiteren Kliniken oder ambulant behandelte bakterielle Infektionen und Dekompensationen der Leberzirrhose nicht vollständig ohne die Mithilfe der Patienten zu erfassen.

Zudem war nicht bei allen Patienten eine Einschätzung klinisch signifikanter portaler Hypertension (CSPH) vorhanden. Eine HVPG-Messung, der Goldstandard zur Bestimmung einer CSPH, lag in 141 (18.8%) Fällen vor. In 386 (51.8%) Fällen konnte der LSPS-Score zur CSPH-Einschätzung erhoben werden. Dieser, entwickelt von Berzigotti et al., zeigte eine hohe Genauigkeit bei der Bestimmung einer CSPH (61). So wurden beide Parameter zur CSPH-Einschätzung kombiniert.

Bei Patienten mit kompensierter Zirrhose und vorhandener Bestimmung der CSPH wurde, wie oben beschrieben, eine geringfügig schwerere Erkrankung der Leber festgestellt als bei kompensierten Patienten ohne CSPH-Einschätzung. Aufgrund

dessen wurde eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt, in der die Ergebnisse mit Bestätigung der Prädiktoren für bakterielle Infektionen in der Subgruppe von Patienten mit CSPH-Einschätzung wie in der gesamten Gruppe repliziert werden konnten.

Eine weitere Limitation stellt die relativ kleine Fallzahl von Patienten mit kompensierter Zirrhose und bakterieller Infektion dar (insgesamt 206 Patienten mit kompensierter Zirrhose, davon 35 mit bakteriellen Infektionen). Da sich hier der Effekt einer *NOD2*-Mutation unerwarteterweise besonders deutlich zeigte, sind noch weitere Studien mit größerer Fallzahl an Patienten im kompensierten Stadium der Leberzirrhose notwendig.

## 5.6 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend untermauern die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass das Vorhandensein einer der *NOD2*-Varianten ein zusätzlicher Faktor für die Entwicklung von bakteriellen Infektionen in allen Stadien der Leberzirrhose ist, besonders aber bei der kompensierten Leberzirrhose. Bei kompensierter Zirrhose repräsentiert CSPH einen unabhängigen Prädiktor für bakterielle Infektionen, während bei dekomensierter Zirrhose mit Leberinsuffizienz die Zeichen des Leberversagens wie Gerinnungsparameter, eine niedrige Albuminkonzentration sowie die verschiedenen Ausprägungen der Dekompensation wie HE, Aszites und Ikterus an Relevanz gewinnen. Da bakterielle Infektionen für die Prognose der Leberzirrhose von großer Bedeutung sind, sind weitere Studien für die Identifizierung von Biomarkern und die Entwicklung von frühen Interventionsstrategien notwendig. So könnte das Outcome bei Patienten mit höchstem Risiko verbessert werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Schuppan D, Afdhal NH (2008) Liver cirrhosis. *Lancet*, 371, 838–851.
2. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK (2014) Liver cirrhosis. *Lancet*, 383, 1749–1761.
3. Rabe C, Heller J, Sauerbruch T, Caselmann WH (2001) Leberzirrhose - Pathogenese und Diagnostik. *Dtsch med Wochenschr*, 126, 975–977.
4. Kellner U (2019) Erkrankungen der Leber. *Kurzlehrbuch Pathologie*, Thieme, pp. 285–303.
5. Riede UN (2017) Leber. *Allgemeine und spezielle Pathologie*, Springer Verlag, pp. 523–549.
6. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic M et al. (2013) The burden of liver disease in Europe: A review of available epidemiological data. *J. Hepatol.*, 58, 593–608.
7. Lozano R, Naghavi M, Foreman K et al. (2012) Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380, 2095–2128.
8. Scaglione S, Kliethermes S, Cao G et al. (2015) The epidemiology of cirrhosis in the United States a population-based study. *J. Clin. Gastroenterol.*, 49, 690–696.
9. Sevastianos VA, Dourakis SP (2016) Alcoholic liver disease: A clinical review. *J. Nutr. Food Sci.*, 06, 505.
10. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN (2009) Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Q. J. Med.*, 103, 71–83.
11. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE et al. (2012) The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*, 55, 2005–2023.
12. Krawitt EL (1996) Autoimmune Hepatitis. *N. Engl. J. Med.*, 334, 897–903.
13. Manns MP, Lohse AW, Vergani D (2015) Autoimmune hepatitis - Update 2015. *Hepatology*, 62, 100–111.
14. Kaplan MM, Gershwin ME (2005) Primary biliary cirrhosis. *N. Engl. J. Med.*, 353, 1261–1273.
15. Lutz HH, Trautwein C, Tischendorf JJW (2013) Primary sclerosing cholangitis. *Dtsch. Arztebl. Int.*, 110, 867–874.
16. Janse M, Lamberts LE, Franke L et al. (2011) Three ulcerative colitis susceptibility loci are associated with primary sclerosing cholangitis and indicate a role for IL2, REL, and CARD9. *Hepatology*, 53, 1977–1985.
17. Maggs JRL, Chapman RW (2008) An update on primary sclerosing cholangitis. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, 24, 377–383.
18. Feder JN, Gnirke A, Thomas W et al. (1996) A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat. Genet.*, 13, 399–408.
19. Wilson SAK, Edin MD, Lond MRCP (1912) Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain*, 34, 295–507.
20. Bull PC, Thomas GR, Rommens JM et al. (1993) The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nat. Genet.*, 5, 327–337.
21. Garcia-Tsao G, Friedman S, Iredale J, Pinzani M (2010) Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology*, 51, 1445–1449.
22. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L (2006) Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: A systematic review of 118 studies. *J. Hepatol.*, 44, 217–231.
23. Asrani SK, Kamath PS (2013) Natural History of Cirrhosis. *Curr. Gastroenterol. Rep.*, 15, 308.

24. Ginés P, Quintero E, Arroyo V et al. (1987) Compensated cirrhosis: Natural history and prognostic factors. *Hepatology*, 7, 122–128.
25. Saunders J, Walters JRF, Davies P, Paton A (1981) A 20-year prospective study of cirrhosis. *Br. Med. J.*, 282, 263–266.
26. Herold G (2017) Innere Medizin. *Gerd Herold (Verlag)*, p. 547.
27. Nuffer Z, Marini T, Rupasov A et al. (2017) The best single measurement for assessing splenomegaly in patients with cirrhotic liver morphology. *Acad. Radiol.*, 24, 1510–1516.
28. Jalan R, Hayes P (2000) UK guidelines on the management of variceal haemorrhage in cirrhotic patients. *Gut*, 46, 1–15.
29. Arroyo V, Colmenero J (2003) Ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis: pathophysiological basis of therapy and current management. *J. Hepatol.*, 38, 69–89.
30. Fargo M V, Grogan SP, Saguil A (2017) Evaluation of Jaundice in Adults. *Am. Fam. Physician*, 95, 164–168.
31. Ferenci P, Lockwood A, Mullen K et al. (2002) Hepatic encephalopathy - Definition, nomenclature, diagnosis, and quantification: Final report of the Working Party at the 11th World Congresses of Gastroenterology, Vienna, 1998. *Hepatology*, 35, 716–721.
32. Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J et al. (2014) Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice guideline by the European Association for the Study of the Liver and the American Association for the Study of Liver Diseases. *J. Hepatol.*, 61, 642–659.
33. Jemal A, Bray F, Center MM et al. (2011) Global Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*, 61, 69–90.
34. Llovet JM, Brú C, Bruix J (1999) Prognosis of hepatocellular carcinoma: The BCLC Staging Classification. *Semin. Liver Dis.*, 19, 329–338.
35. Arvaniti V, D’Amico G, Fede G et al. (2010) Infections in patients with cirrhosis increase mortality four-fold and should be used in determining prognosis. *Gastroenterology*, 139, 1246–1256.
36. Moreau R, Jalan R, Gines P et al. (2013) Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with acute decompensation of cirrhosis. *Gastroenterology*, 144, 1426–1437.
37. Dionigi E, Garcovich M, Borzio M et al. (2017) Bacterial infections change natural history of cirrhosis irrespective of liver disease severity. *Am. J. Gastroenterol.*, 112, 588–596.
38. Chavez-Tapia NC, Barrientos-Gutierrez T, Tellez-Avila FI et al. (2011) Meta-analysis: antibiotic prophylaxis for cirrhotic patients with upper gastrointestinal bleeding - an updated Cochrane review. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 34, 509–518.
39. Jalan R, Fernandez J, Wiest R et al. (2014) Bacterial infections in cirrhosis: A position statement based on the EASL Special Conference 2013. *J. Hepatol.*, 60, 1310–1324.
40. Wiegand J, Berg T (2013) Ätiologie, Diagnose und Prävention einer Leberzirrhose. *Dtsch. Arztebl. Int.*, 110, 85–91.
41. Berg T (2009) Diagnostik bei erhöhten Leberwerten. *Gastroenterologe*, 4, 557–572.
42. Vermehren J, Schlosser B, Domke D et al. (2012) High prevalence of Anti-HCV Antibodies in two metropolitan emergency departments in Germany : A prospective screening analysis of 28.809 Patients. *PLoS One*, 7, e41206.
43. Castera L (2012) Noninvasive methods to assess liver disease in patients with hepatitis B or C. *Gastroenterology*, 142, 1293–1302.
44. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L et al. (2001) Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet*, 357, 1069–1075.
45. Lurie Y, Webb M, Cytter-Kuint R et al. (2015) Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis. *World J. Gastroenterol.*, 21, 11567–11583.

46. Dietrich CF, Schreiber-Dietrich D, Nürnberg D (2013) Abdominelle Sonographie. *Gastroenterologe*, 8, 341–356.
47. Gerstenmaier JF, Gibson RN (2014) Ultrasound in chronic liver disease. *Insights Imaging*, 5, 441–455.
48. Di Leilo A, Cestari C, Lomazzi A, Beretta L (1989) Cirrhosis : Diagnosis with sonographic study of the liver surface. *Radiology*, 172, 389–392.
49. Friedrich-Rust M, Ong M-F, Martens S et al. (2008) Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: A Meta-Analysis. *Gastroenterology*, 134, 960–974.
50. Pose E, Ginès P (2018) Transient elastography for alcoholic liver disease : a step forward. *Lancet*, 3, 589–591.
51. Pavlov CS, Casazza G, Nikolova D et al. (2016) Systematic review with meta-analysis: diagnostic accuracy of transient elastography for staging of fibrosis in people with alcoholic liver disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 43, 575–585.
52. Trabut J-B, Véronique T, Nalpas B et al. (2012) Rapid decline of liver stiffness following alcohol withdrawal in heavy drinkers. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 36, 1407–1411.
53. Cleff T (2015) Streuungsparameter. *Deskriptive Statistik und Explorative Datenanalyse*, Springer Verlag, p. 54,55.
54. Castera L, Forns X, Alberti A (2008) Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *J. Hepatol.*, 48, 835–847.
55. Castera L, Yuen Chan HL, Arrese M et al. (2015) EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J. Hepatol.*, 63, 237–264.
56. De Franchis R, Abraldes JG, Bajaj J et al. (2015) Expanding consensus in portal hypertension Report of the Baveno VI Consensus Workshop: Stratifying risk and individualizing care for portal hypertension. *J. Hepatol.*, 63, 543–545.
57. Hobolth L, Bendtsen F, Møller S (2012) Indications for portal pressure measurement in chronic liver disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, 47, 887–892.
58. Ripoll C, Groszmann R, Garcia-Tsao G et al. (2007) Hepatic venous pressure gradient predicts clinical decompensation in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*, 133, 481–488.
59. Bosch J, Abraldes JG, Berzigotti A, García-Pagan JC (2009) The clinical use of HVPG measurements in chronic liver disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 6, 573–582.
60. Garcia-Tsao G, Groszmann RJ, Fisher RL et al. (1985) Portal pressure, presence of gastroesophageal varices and variceal bleeding. *Hepatology*, 5, 419–424.
61. Berzigotti A, Seiyo S, Arena U et al. (2013) Elastography, spleen size, and platelet count identify portal hypertension in patients with compensated cirrhosis. *Gastroenterology*, 144, 102–111.
62. Abraldes JG, Bureau C, Stefanescu H et al. (2016) Noninvasive tools and risk of clinically significant portal hypertension and varices in compensated cirrhosis: The “Anticipate” study. *Hepatology*, 64, 2173–2184.
63. de Franchis R, Pascal JP, Ancona E et al. (1992) Definitions, methodology and therapeutic strategies in portal hypertension. A Consensus Development Workshop, April 5 and 6, 1990. *J. Hepatol.*, 15, 256–261.
64. Baatz H, Raak P, de Ortueta D et al. (2010) Praktische Bedeutung der Flimmerfusionsfrequenz (CFF)-Zeitliche Auflösung des visuellen Systems in der Differenzialdiagnose. *Ophthalmologe*, 107, 715–719.
65. Kircheis G, Wettstein M, Timmermann L et al. (2002) Critical flicker frequency for quantification of low-grade hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 35, 357–366.
66. Romero-Gómez M, Córdoba J, Jover R et al. (2007) Value of the critical flicker frequency in patients with minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 45, 879–885.
67. D’Amico G, Pasta L, Morabito A et al. (2014) Competing risks and prognostic stages of cirrhosis: A 25-year inception cohort study of 494 patients. *Aliment.*

- Pharmacol. Ther.*, 39, 1180–1193.
68. Child CG, Turcotte JG (1964) Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg*, 1, 1–85.
  69. Pugh RNH, Murray-Lyon IM, Dawson JL et al. (1973) Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br. J. Surg.*, 60, 646–649.
  70. Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M et al. (2001) A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology*, 33, 464–470.
  71. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FS et al. (2000) A Model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology*, 31, 864–871.
  72. Wiesner R, Edwards E, Freeman R et al. (2003) The model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology*, 124, 91–96.
  73. Bundesärztekammer (2006) Richtlinien zur Organtransplantation gemäß § 16 TPG. *Dtsch. Arztebl.*, 103, 3282–3290.
  74. Fernández J, Gustot T (2012) Management of bacterial infections in cirrhosis. *J. Hepatol.*, 56, Supp.1, S1–S12.
  75. Rimola A, García-Tsao G, Navasa M et al. (2000) Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. *J. Hepatol.*, 32, 142–153.
  76. Hung T, Tseng C, Hsieh Y et al. (2013) High mortality of pneumonia in cirrhotic patients with ascites. *BMC Gastroenterol.*, 13, 25.
  77. Benten D, Wiest R (2012) Gut microbiome and intestinal barrier failure - The “Achilles heel” in hepatology? *J. Hepatol.*, 56, 1221–1223.
  78. Berg RD, Garlington AW (1979) Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in a gnotobiotic mouse model. *Infect. Immun.*, 23, 403–411.
  79. Bruns T, Zimmermann HW, Stallmach A (2014) Risk factors and outcome of bacterial infections in cirrhosis. *World J. Gastroenterol.*, 20, 2542–2554.
  80. Wiest R, Lawson M, Geuking M (2014) Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J. Hepatol.*, 60, 197–209.
  81. Bellot P, Francés R, Such J (2013) Pathological bacterial translocation in cirrhosis: Pathophysiology, diagnosis and clinical implications. *Liver Int.*, 33, 31–39.
  82. Bartoletti M, Giannella M, Caraceni P et al. (2014) Epidemiology and outcomes of bloodstream infection in patients with cirrhosis. *J. Hepatol.*, 61, 51–58.
  83. Marciano S, Dirchwolf M, Bermudez CS et al. (2018) Spontaneous bacteremia and spontaneous bacterial peritonitis share similar prognosis in patients with cirrhosis: a cohort study. *Hepatol. Int.*, 12, 181–190.
  84. Racanelli V, Rehmann B (2006) The liver as an immunological organ. *Hepatology*, 43, Supp.1, S54–S62.
  85. Albillos A, Lario M, Álvarez-Mon M (2014) Cirrhosis-associated immune dysfunction: Distinctive features and clinical relevance. *J. Hepatol.*, 61, 1385–1396.
  86. Chamailard M, Girardin SE, Viala J, Philpott DJ (2003) Nods, nalps and naip: Intracellular regulators of bacterial-induced inflammation. *Cell. Microbiol.*, 5, 581–592.
  87. Motta V, Soares F, Sun T, Philpott DJ (2015) NOD-Like Receptors: versatile cytosolic sentinels. *Physiol. Rev.*, 95, 149–178.
  88. Chen G, Shaw MH, Kim Y-G, Nuñez G (2009) NOD-Like Receptors: role in innate immunity and inflammatory disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.*, 4, 365–98.
  89. Ogura Y, Inohara N, Benito A et al. (2001) Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-κB. *J. Biol. Chem.*, 276, 4812–4818.
  90. Balasubramanian I, Gao N (2017) From sensing to shaping microbiota: insights into the role of NOD2 in intestinal homeostasis and progression of Crohn’s disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 313, 7–13.

91. Girardin SE, Boneca IG, Viala J et al. (2003) NOD2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J. Biol. Chem.*, 278, 8869–8872.
92. Al Nabhani Z, Dietrich G, Hugot J-P, Barreau F (2017) NOD2: The intestinal gate keeper. *PLoS Pathog.*, 13, e1006177.
93. Philpott DJ, Sorbara MT, Robertson SJ et al. (2014) NOD proteins: regulators of inflammation in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 14, 9–23.
94. Al Nabhani Z, Lepage P, Mauny P et al. (2016) NOD2 deficiency leads to a specific and transmissible mucosa-associated microbial dysbiosis which is independent of the mucosal barrier defect. *J. Crohns. Colitis*, 10, 1428–1436.
95. Oikonomou T, Papatheodoridis G V., Samarkos M et al. (2018) Clinical impact of microbiome in patients with decompensated cirrhosis. *World J. Gastroenterol.*, 24, 3813–3820.
96. Bajaj JS, Heumann DM, Hylemon PB et al. (2014) Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J. Hepatol.*, 60, 940–947.
97. Ling Z, Liu X, Cheng Y et al. (2015) Decreased diversity of the oral microbiota of patients with Hepatitis B Virus-induced Chronic liver disease: a pilot project. *Sci. Rep.*, 5, 17098.
98. Harputluoglu MMM, Dertli R, Otlu B et al. (2016) Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2 variants in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Dig. Dis. Sci.*, 61, 1545–1552.
99. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N et al. (2001) A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411, 603–606.
100. Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM et al. (2002) The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 122, 867–874.
101. Graw J (2015) Veränderungen im Genom: Mutationen. *Genetik*, Springer Verlag, pp. 399–458.
102. Lek M, Karczewski KJ, Minikel E V. et al. (2016) Analysis of protein-coding genetic variation in 60.706 humans. *Nature*, 536, 285–291.
103. Hugot J-P, Chamaillard M, Zouali H et al. (2001) Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411, 599–603.
104. Strober W, Asano N, Fuss I et al. (2014) Cellular and molecular mechanisms underlying NOD2 risk-associated polymorphisms in Crohn's disease. *Immunol. Rev.*, 260, 249–260.
105. Appenrodt B, Grünhage F, Gentemann MG et al. (2010) Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2 (NOD2) variants are genetic risk factors for death and spontaneous bacterial peritonitis in liver cirrhosis. *Hepatology*, 51, 1327–1333.
106. Bruns T, Peter J, Reuken PA et al. (2012) NOD2 gene variants are a risk factor for culture-positive spontaneous bacterial peritonitis and monomicrobial bacterascites in cirrhosis. *Liver Int.*, 32, 223–230.
107. Holler E, Rogler G, Brenmoehl J et al. (2008) The role of genetic variants of NOD2/CARD15, a receptor of the innate immune system, in GvHD and complications following related and unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation. *Int. J. Immunogenet.*, 35, 381–384.
108. Miceli-Richard C, Lesage S, Rybojad M et al. (2001) CARD15 mutations in Blau syndrome. *Nat. Genet.*, 29, 19–20.
109. Casper M, Mengel M, Fuhrmann C et al. (2015) The INCA trial (Impact of NOD2 genotype-guided antibiotic prevention on survival in patients with liver Cirrhosis and Ascites ): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 16, 83.
110. QUIAGEN (2016) DNA purification from blood or body fluids (Spin Protocol). *QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook*, p. 26.
111. Bajaj JS, O'Leary JG, Reddy KR et al. (2012) Second infections independently increase mortality in hospitalized patients with cirrhosis: the north American Consortium for the study of end-stage liver disease (NACSELD) experience.

- Hepatology*, 56, 2328–2335.
112. Cazzaniga M, Dionigi E, Gobbo G et al. (2009) The systemic inflammatory response syndrome in cirrhotic patients: Relationship with their in-hospital outcome. *J. Hepatol.*, 51, 475–482.
  113. Leitlinienprogramm DGU (2017) Interdisziplinäre S3 Leitlinie: Epidemiologie, Diagnostik, Therapie, Prävention und Management unkomplizierter, bakterieller, ambulant erworbener Harnwegsinfektionen bei erwachsenen Patienten. AWMF Registernummer: 043/044.
  114. Wunderink RG, Waterer GW (2014) Community-acquired pneumonia. *N. Engl. J. Med.*, 370, 543–551.
  115. Garcia-Tsao G (1992) Spontaneous bacterial peritonitis. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 21, 257–275.
  116. Gerbes AL, Gülberg V, Sauerbruch T et al. (2011) S3-Leitlinie "Aszites, Spontan bakterielle Peritonitis, hepatorenales Syndrom." *Z. Gastroenterol.*, 49, 749–779.
  117. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW et al. (2016) The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA*, 315, 801–810.
  118. Robert Koch Institut (2013) Aktuelles zur Epidemiologie von *Clostridium difficile*. *Epidemiol. Bull.*, 26, 242–244.
  119. Fasolato S, Angeli P, Dallagnese L et al. (2007) Renal failure and bacterial infections in patients with cirrhosis: Epidemiology and clinical features. *Hepatology*, 45, 223–229.
  120. Akaike H (1971) A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.*, 19, 716–723.
  121. Vrieze SI (2012) Model selection and psychological theory: A discussion of the differences between the Akaike Information Criterion (AIC) and the Bayesian Information Criterion (BIC). *Psychol. Methods*, 17, 228–243.
  122. Schwarz G (1978) Estimating the dimension of a model. *Ann. Stat.*, 6, 461–464.
  123. Yanagihara H, Sekiguchi R, Fujikoshi Y (2003) Bias correction of AIC in logistic regression models. *J. Stat. Plan. Inference*, 115, 349–360.
  124. Hurvich CM, Tsai C (1989) Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*, 76, 297–307.
  125. Takayama T, Makuuchi M, Hirohashi S et al. (1998) Early hepatocellular carcinoma as an entity with a high rate of surgical cure. *Hepatology*, 28, 1241–1246.
  126. Dinya T, Tornai T, Vitalis Z et al. (2018) Functional polymorphisms of innate immunity receptors are not risk factors for the non-SBP type bacterial infections in cirrhosis. *Liver Int.*, 38, 1242–1252.
  127. Reichert MC, Ripoll C, Casper M et al. (2019) Common NOD2 risk variants as major susceptibility factors for bacterial infections in compensated cirrhosis. *Clin. Transl. Gastroenterol.*, 10, 1–9.
  128. Gerbes AL, Labenz J, Appenrodt B et al. (2019) Aktualisierte S2k-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) „Komplikationen der Leberzirrhose". *Z. Gastroenterol.*, 57, 611–680.
  129. Ripoll C, Bañares R, Rincón D et al. (2005) Influence of hepatic venous pressure gradient on the prediction of survival of patients with cirrhosis in the MELD era. *Hepatology*, 42, 793–801.
  130. Pijls KE, Jonkers DMAE, Elamin EE et al. (2013) Intestinal epithelial barrier function in liver cirrhosis: an extensive review of the literature. *Liver Int.*, 33, 1457–1469.
  131. Cariello R, Federico A, Sapone A et al. (2010) Intestinal permeability in patients with chronic liver diseases: Its relationship with the aetiology and the entity of liver damage. *Dig. Liver Dis.*, 42, 200–204.
  132. Senzolo M, Fries W, Buda A et al. (2009) Oral Propranolol decreases intestinal permeability in patients with cirrhosis: another protective mechanism against bleeding? *Am. J. Gastroenterol.*, 104, 3115–3116.

133. Xu W, Wu X, Li J (2002) Influence of portal pressure change on intestinal permeability in patients with portal hypertension. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Internatinal*, 1, 510–514.
134. Selzner M, Tuttle-Newhall JE, Dahm F et al. (2001) Current indication of a modified Sugiura procedure in the management of variceal bleeding. *J. Am. Coll. Surg.*, 193, 166–173.
135. Fernández J, Acevedo J, Wiest R et al. (2017) Bacterial and fungal infections in acute-on-chronic liver failure: Prevalence, characteristics and impact on prognosis. *Gut*, 67, 1870–1880.
136. Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M et al. (1988) Peripheral Arterial Vasodilatation Hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology*, 8, 1151–1157.
137. Bernardi M, Moreau R, Angeli P et al. (2015) Mechanisms of decompensation and organ failure in cirrhosis: From peripheral arterial vasodilation to systemic inflammation hypothesis. *J. Hepatol.*, 63, 1272–1284.
138. Ginés P, Titó L, Arroyo V et al. (1988) Randomized comparative study of therapeutic paracentesis with and without intravenous albumin in cirrhosis. *Gastroenterology*, 94, 1493–1502.
139. Quinlan GJ, Martin GS, Evans TW (2005) Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology*, 41, 1211–1219.
140. Bernardi M, Caraceni P, Navickis RJ, Wilkes MM (2012) Albumin Infusion in Patients Undergoing Large-Volume Paracentesis: A Meta-Analysis of Randomized Trials. *Hepatology*, 55, 1172–1181.
141. Carvalho JR, Machado MV (2018) New insights about Albumin and liver disease. *Ann. Hepatol.*, 17, 547–560.
142. Bernardi M, Ricci CS, Zaccherini G (2014) Role of human Albumin in the management of complications of liver cirrhosis. *J. Clin. Exp. Hepatol.*, 4, 302–311.
143. Clària J, Stauber RE, Coenraad MJ et al. (2016) Systemic inflammation in decompensated cirrhosis: Characterization and role in acute-on-chronic liver failure. *Hepatology*, 64, 1249–1264.
144. Hernaez R, Solà E, Moreau R, Ginès P (2017) Acute-on-chronic liver failure: an update. *Gut*, 66, 541–553.
145. D'Amico G, Morabito A, D'Amico M et al. (2018) Clinical states of cirrhosis and competing risks. *J. Hepatol.*, 68, 563–576.
146. Bedossa P, Poynard T (1996) An algorithm for the grading of activity in chronic Hepatitis C. *Hepatology*, 24, 289–293.
147. Tattoli I, Travassos LH, Carneiro LA et al. (2007) The nodosome: NOD1 and NOD2 control bacterial infections and inflammation. *Semin. Immunopathol.*, 29, 289–301.
148. Barreau F, Meinzer U, Chareyre F et al. (2007) CARD15/NOD2 is required for Peyer's Patches homeostasis in mice. *PLoS One*, 2, e523.
149. Wiest R, Albillos A, Trauner M et al. (2017) Targeting the gut-liver axis in liver disease. *J. Hepatol.*, 67, 1084–1103.
150. Cirera I, Bauer TM, Navasa M et al. (2001) Bacterial translocation of enteric organisms in patients with cirrhosis. *J. Hepatol.*, 34, 32–37.
151. Spencer E, Brassey J, Mahtani K (2017) Recall bias. <https://catalogofbias.org/biases/recall-bias/>.

## 7 Publikation

Common NOD2 Risk Variants as Major Susceptibility Factors for Bacterial Infections in Compensated Cirrhosis. (2019)

Matthias Christian Reichert, MD, Cristina Ripoll, MD, PhD, Markus Casper, MD, Robin Greinert, MD, Edith Vandieken, MD, Frank Grünhage, MD, PhD, Beate Appenrodt, MD, PhD, Alexander Zipprich, MD, PhD, Frank Lammert, MD, PhD  
Clinical and Translational Gastroenterology, 10, 1-9

## 8 Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von 2016 bis 2020 in der Klinik für Innere Medizin II der Universität des Saarlandes erstellt. Ich möchte mich bei allen Mitarbeitern für die produktive und freundschaftliche Zusammenarbeit bedanken. Im Speziellen gilt mein herzlicher Dank:

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert, meinem Doktorvater, für die Möglichkeit des wissenschaftlichen Arbeitens und die Überlassung des Themas mit hilfreicher, kritischer Korrektur des Manuskripts.

Herrn Dr. med. Matthias Reichert, für die kompetente Begleitung meiner Promotion, die ständige Ansprechbarkeit und die Weitergabe seiner wissenschaftlichen und klinischen Erfahrung, die für mich eine große Hilfe darstellte.

Frau Dr. rer. nat. Susanne Weber und ihrem Team des Forschungslabors der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums des Saarlandes, für ihre Hilfestellung bei allen labortechnischen Angelegenheiten und die Einarbeitung in den methodischen Teil der vorliegenden Dissertation.

Herrn Alexander Olbricht, EDV-Beauftragter der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums des Saarlandes, für die freundliche und kompetente Hilfe bei EDV-Angelegenheiten.

Frau PD Dr. med. Cristina Ripoll, Universitätsklinikum Halle, für die großzügige Bereitstellung der Daten ihres Patientenkollektivs sowie die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Besonders möchte ich mich bei meiner Familie und Jan Reinhard für die Unterstützung und Motivation in Bezug auf die Anfertigung meiner Promotionsarbeit bedanken.

## **9 Lebenslauf**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.