

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Wolfram T. Knoefel

Ist „leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein“ (LRG)
ein geeigneter Biomarker bei akuter Appendizitis
im Erwachsenenalter im Vergleich zu
Leukozyten und C-reaktivem Protein (CRP)?

-

Eine prospektive Beobachtungsstudie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Katharina Maria Hipp

(2019)

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. W.T. Knoefel

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. J.G. Bode

I. Zusammenfassung

Die Diagnose einer akuten Appendizitis kann präoperativ aufgrund der Vielzahl an Differentialdiagnosen nicht immer eindeutig gestellt werden und wird oft erst intraoperativ gesichert. Um die Zahl negativer Appendektomien zu reduzieren, sollte die Sicherheit der Diagnosestellung einer akuten Appendizitis durch nicht-invasive Methoden verbessert werden. Ziel dieser Arbeit war es, die Sensitivität und Spezifität des Akute Phase Proteins *leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein* (LRG) im Urin bei akuter Appendizitis im Erwachsenenalter im Vergleich zu Leukozyten und C-reaktivem Protein (CRP) zu untersuchen.

109 Patienten im Alter von 18-82 Jahren, die sich in der chirurgischen Ambulanz mit akuten Bauchschmerzen vorstellten, wurden in eine prospektive Beobachtungsstudie eingeschlossen. LRG wurde im Urin der Probanden massenspektrometriebasiert quantifiziert. Anhand der Patientenunterlagen wurden klinische Daten, die CRP Konzentration im Serum und die Leukozytenzahl im Blutbild erfasst. Bei 14 von 109 Patienten wurde eine histologisch gesicherte akute Appendizitis diagnostiziert. Es zeigte sich, dass die Menge von LRG im Urin bei Patienten mit akuter Appendizitis zwar tendenziell erhöht ist, jedoch ohne statistisch signifikanten Unterschied zur Gruppe der sonstigen Diagnosen ($p=0,202$). LRG im Urin ist jedoch bei der Gruppe der systemisch entzündlichen Erkrankungen akute Appendizitis, Cholezystitis und Sigmadivertikulitis im Vergleich zu den nicht entzündlichen Erkrankungen signifikant erhöht ($p=0,001$).

Die Leukozytenzahl ist bei akuter Appendizitis statistisch signifikant erhöht ($p<0,001$). Ihre Sensitivität als Biomarker bei akuter Appendizitis liegt bei 92,9% und die Spezifität bei 75,5% (AUC 0,862) bei einem oberen Grenzwert von 10450/ μ l im Blutbild. Das CRP ist mit einer Sensitivität von 71,4% und einer Spezifität von 69,1% (AUC 0,689) bei einem oberen Grenzwert von 1,35mg/dl ebenso wie Urin-LRG mit einer Sensitivität von 78,6% und einer Spezifität von 61,7% (AUC 0,583) bei einem oberen Grenzwert von 14,8fmol/200ng Protein den Leukozyten als Biomarker unterlegen.

Diese Arbeit zeigt, dass LRG im Urin keinen Vorteil als Biomarker bei einer akuten Appendizitis im Erwachsenenalter im Vergleich zum Routinewert Leukozytenzahl bietet.

II. Abstract

Diagnosing acute appendicitis can be difficult since its symptoms can occur similarly in various diseases. Securely, the diagnosis can often only be confirmed during surgery. To prevent unnecessary surgery, further non-invasive-options to ensure the diagnosis need to be evaluated.

The aim of this study was to evaluate sensitivity and specificity of the acute phase protein *leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein* (LRG) in urine as a biomarker for acute appendicitis in adults in comparison to white blood cell count (WBC) and C-reactive protein (CRP).

109 patients, aged from 18 to 82 years, who presented with acute abdominal pain in the emergency room were included in a prospective study. The patients' urine was analyzed for LRG amount by quantitative mass spectrometry. The results as well as clinical data, CRP and WBC were included in the statistical analysis.

In 14 out of 109 patients an acute appendicitis was histologically confirmed. Urine-LRG levels appear to be higher in patients with acute appendicitis but no significant difference showed up compared to patients with other diagnoses ($p=0,202$). A group of inflammatory diseases, including acute appendicitis, cholecystitis and sigmoid diverticulitis was associated with significantly higher Urine-LRG levels in comparison to non-inflammatory diagnoses ($p=0,001$). The WBC was significantly elevated in patients with acute appendicitis ($p<0,001$) and showed up as sensitive marker for acute appendicitis (sensitivity 92,9%, specificity 75,5%, AUC 0,862, cut-off 10450/ μ l). CRP (sensitivity 71,4%, specificity 69,1%, AUC 0,689, cut off 1,35mg/dl) and Urine-LRG (sensitivity 78,6%, specificity 61,7%, AUC 0,583, cut off 14,8fmol/200ng protein) were less sensitive and specific for acute appendicitis.

In conclusion, Urine-LRG is not beneficial as a clinical biomarker for acute appendicitis in adults in comparison to the WBC.

III. Abkürzungsverzeichnis

(m/z)	Masse zu Ladungsverhältnis
(v/v)	Volumenprozent
°C	Grad Celsius
µg	mikrogramm
µl	mikroliter
µm	mikrometer
A.	Arteria
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
AUC	<i>Area under the curve</i>
BMFZ	Biologisch Medizinisches Forschungszentrum
CA 125	<i>Cancer-Antigen 125</i>
CA 19-9	<i>Carbohydrate-Antigen 19-9</i>
CCC	<i>cholangiocellular carcinoma</i> , Cholangiozelluläres Karzinom
CCL-2	<i>Chemokine C-C motif ligand</i>
CID	<i>Collision Induced Dissociation</i>
cm	centimeter
CRC	<i>Colorectal Cancer</i> , Kolorektales Karzinom
CRP	<i>C-reactive protein</i> , C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
CXCL-8	<i>Chemokine ligand 8</i>
dl	deziliter
DTT	Dithiothreitol
E.coli	Escherichia coli
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Essay</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation
fmol	femtomol
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>
G	Erdbeschleunigung
GCSF	<i>Granulocyte-colony-stimulating-factor</i>
HBV	Hepatitis-B-Virus

HCC	<i>Hepatocellular carcinoma,</i> Hepatozelluläres Karzinom
HCV	Hepatitis-C-Virus
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i>
Å	Ångström
IgA	Immunglobulin A
IL-1	Interleukin-1
IL-1 β	Interleukin-1 β
IL-6	Interleukin-6
kDa	kilodalton
l	liter
LRG	<i>Leucine-rich 3.1-S-α2-glycoprotein</i>
LRHG	<i>Leucine-rich HEV glycoprotein</i>
M	Mol
mg	milligramm
min.	Minuten
ml	milliliter
mM	millimol
MMP-9	Matrixmetalloproteinase
MPL	<i>Molecular Proteomics Laboratory,</i> Düsseldorf, Deutschland
MPO	Myeloperoxidase
mRNA	mitochondriale Ribonukleinsäure
ng	nanogramm
NH ₄ CO ₃	Ammoniumhydrogencarbonat
Nll.	Nodi lymphatici
nm	nanometer
NSCLC	<i>Non small cell lung cancer,</i> Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
QQQ	Triple Quadrupol Massenspektrometer
ROC AUC	<i>Receiver Operating Characteristic Area Under the Curve</i>
r _s	Rangkorrelationskoeffizient
S100 A8/A9	Calprotectin

SAA	Serum amyloid A
SIM	<i>Selected Ion Monitoring</i>
spp.	subspecies
SRM LC-MS/MS	<i>Selected Reaction Monitoring Liquid Chromatography-Tandem Massenspektrometrie</i>
TFA	Trifluoressigsäure
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
Tris	<i>Tris(hydroxymethyl)-aminomethan</i>
TSS	<i>Toxic Shock Syndrome</i>
UHPLC	<i>ultrahighpressure liquid chromatography</i>
USA	<i>United States of America</i>
V.	Vena
WBC	<i>White Blood Cell Count</i> , Leukozytenzahl
SV	Simianes Immundefizienz Virus

IV. Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Die akute Appendizitis	1
1.1.1 Definition	1
1.1.2 Historische Entwicklung der chirurgischen Therapie.....	1
1.1.3 Epidemiologie	2
1.1.4 Anatomie der Appendix vermiformis	3
1.1.5 Pathogenese	3
1.1.6 Klinik und Diagnostik	4
1.1.7 Therapie	6
1.1.8 Histopathologische Differenzierung	7
1.1.9 Differentialdiagnose: Neurogene Appendikopathie	7
1.2 Aktuelle Entwicklungen zur Verbesserung der Diagnosestellung der akuten Appendizitis	8
1.2.1 Operationsrisiken und Komplikationen	8
1.2.2 Neue Biomarker bei akuter Appendizitis	9
1.3 <i>Leucine-rich 3.1-S-α2-glycoprotein</i> (LRG).....	10
1.3.1 Grundlagen und Erkenntnisse aus experimenteller Forschung.....	10
1.3.2 Bedeutung von LRG bei gastroenterologischen und rheumatologischen Erkrankungen.....	12
1.3.3 Bedeutung von LRG bei neurologischen Erkrankungen.....	13
1.3.4 Bedeutung von LRG bei gynäkologischen Erkrankungen.....	13
1.3.5 Bedeutung von LRG bei weiteren Erkrankungen.....	13
1.3.6 Bisherige Forschungsergebnisse zu LRG bei akuter Appendizitis	14
1.4 Ziele der Arbeit	16
2. Material und Methoden	17
2.1 Vorbereitung und Probengewinnung	17
2.1.1 Wahl des Analyseverfahrens.....	17

2.1.2	Probengewinnung	17
2.2	Probenanalyse durch <i>Targeted Proteomics</i> : Massenspektrometrische Probenanalyse mittels <i>Selected Reaction Monitoring - Liquid Chromatography</i> - Tandem Massenspektrometrie (SRM LC-MS/MS)	19
2.2.1	Massenspektrometriebasierte Proteinquantifizierung	19
2.2.2	Probenvorbereitung	20
2.2.3	Probenanalyse	21
2.3	Datenauswertung und Statistik	23
3.	Ergebnisse	25
3.1	Deskriptive Statistik	25
3.1.1	Anzahl, Geschlechts- und Altersverteilung der Patienten	25
3.1.2	Hauptdiagnosen und ihre Häufigkeit	26
3.2	Auswertung von Unterschieden der Höhe von LRG im Urin, Leukozytenzahl und CRP zwischen den Diagnosegruppen	28
3.2.1	LRG im Urin bei akuter Appendizitis	28
3.2.2	Schweregrade der akuten Appendizitis nach histologischem Befund und Korrelation der Höhe von LRG mit dem Schweregrad	32
3.2.3	Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis und anderen Diagnosen	34
3.2.4	Serum-CRP bei akuter Appendizitis	37
3.3	Korrelationen von Leukozyten, CRP und LRG	39
3.4	Sensitivität und Spezifität von LRG im Urin, CRP im Serum bzw. Leukozytenzahl bei Vorliegen einer akuten Appendizitis	42
4.	Diskussion	45
4.1	Eignet sich LRG im Urin als diagnostischer Biomarker bei akuter Appendizitis?	45
4.2	Die Leukozytenzahl - ein bedeutsamer Biomarker bei akuter Appendizitis	47
4.3	Geringe Korrelation von LRG und CRP	48
4.4	Vergleich von Kinder- und Erwachsenenproben	49

4.5 Die klinische Bedeutung von LRG und Ausblick	50
4.6 Limitationen der Studie und Methodenkritik	52
4.7 Schlussfolgerung	54
5. Literatur- und Quellenverzeichnis	56
6. Anhang	65
1. Handout für Patienten (4 Seiten)	65
2. Heavy Peptides	69
3. Studiendaten	70

1. Einleitung

1.1 Die akute Appendizitis

1.1.1 Definition

Die akute Appendizitis ist eine akute Entzündung der Appendix vermiformis. Sie geht typischerweise mit rechtsseitigen Unterbauchschmerzen einher. Die Appendix vermiformis kann im Krankheitsverlauf perforieren und es können sich Komplikationen wie beispielsweise ein perityphlitischer Abszess und eine Peritonitis ausbilden. Die Therapie der Wahl ist eine chirurgische Entfernung der Appendix vermiformis, eine Appendektomie, welche entweder laparoskopisch oder in offener Technik durchgeführt werden kann. Bei unkomplizierter akuter Appendizitis ohne computertomographischen Nachweis einer Perforation oder eines Abszesses kann auch eine primäre antibiotische Therapie erwogen werden (Billmann und Keck 2017).

1.1.2 Historische Entwicklung der chirurgischen Therapie

Erst ab der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts begannen Chirurgen in den USA und in Europa die akute Appendizitis durch Abszessdrainagen zu therapieren. Zuvor wurden die Patienten in der Regel rein symptomatisch behandelt (Collins 1931). Die erste Appendektomie in den USA wurde 1886 durch Richard J. Hall bei einer zufällig entdeckten gangränösen Appendizitis während der Operation einer inkarzerierten inguinalen Hernie durchgeführt. Den Terminus „Appendizitis“ etablierte Reginald Fitz mit seiner Veröffentlichung im Jahr 1886 (Collins 1931). Immer mehr setzte sich seitdem die chirurgische Therapie vor der konservativen Therapie durch (Pilcher 1889; Mynter 1891). Charles McBurney, der sich intensiv mit der Diagnostik und Therapie der akuten Appendizitis beschäftigte, veröffentlichte 1891 einen Aufsatz mit dem Titel „*The Indications for Early Laparotomy in Appendicitis*“. Er befürwortete darin die frühzeitige Laparotomie bei Verdacht auf Appendizitis, um das Fortschreiten der Erkrankung in eine komplizierte Appendizitis zu vermeiden. Er betonte die Wichtigkeit einer frühen Diagnosestellung und engmaschigen klinischen Kontrolle, um den optimalen Operationszeitpunkt vor Eintreten einer Sepsis

festzulegen und so die Mortalitätsrate zu reduzieren. Die zu dieser Zeit geschätzte Mortalität der akuten Appendizitis beschrieb er unter Berufung auf verschiedene Quellen mit etwa 25%. Er definierte auch den nach ihm benannten McBurney-Punkt (McBurney 1891). Später beschrieb er die Methode des „Wechselschnitts“, der die mediane Laparotomie ablöste und auch heutzutage noch angewendet wird (McBurney 1891; Billmann und Keck 2017). Durch die konsequente frühzeitige chirurgische Therapie und Fortschritte der perioperativen Behandlung konnte die Mortalität der akuten Appendizitis bereits 1946 auf 0,64%, heutzutage bei unkompliziertem Verlauf auf 0,1% gesenkt werden (Murphy und Murphy 1946; Fair et al. 2015).

Die erste Beschreibung einer laparoskopischen Appendektomie erfolgte 1983 durch den Gynäkologen Semm (Semm 1983). Seither entstanden Forschungsarbeiten, die sich mit Vor- und Nachteilen dieser beiden Operationsmethoden und auch anderen neuen Operationsmethoden beschäftigen (Switzer et al. 2012). Auch die Option einer konservativen Therapie mit Antibiotika wird heutzutage kontrovers diskutiert (Varadhan et al. 2012; Hansson et al. 2012; Vons et al. 2011).

1.1.3 Epidemiologie

Die akute Appendizitis ist die häufigste spezifische Ursache für ein akutes Abdomen (Miettinen et al. 1996). Die Inzidenz liegt in Europa und den USA bei etwa 100 Erkrankungen pro 100.000 Einwohnern pro Jahr. Männer erkranken am häufigsten im Alter von 10-14 Jahren, Frauen im Alter von 15-19 Jahren (Allgöwer 2006). Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Das lebenslange Erkrankungsrisiko für eine akute Appendizitis liegt in den USA bei 8,6% für Männer und 6,7% für Frauen, während das lebenslange Risiko appendektomiert zu werden deutlich höher ist. Männer werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 12% und Frauen sogar mit einer Wahrscheinlichkeit von 23,1% im Laufe ihres Lebens appendektomiert (Addiss et al. 1990).

Eine akute Appendizitis tritt vor allem bei einer Appendixlänge zwischen 4-10cm auf. Längere und kürzere Appendizes sind seltener betroffen. Die Ursachen für diese Beobachtungen sind unklar. Möglicherweise sind kurze Appendizes seltener von einer Obstruktion betroffen. Längere Appendizes könnten durch eine vermehrte Schleimproduktion bevorteilt sein. (Pickhardt et al. 2013). Es

wurden auch saisonale Unterschiede im Auftreten der akuten Appendizitis beschrieben. So wird in Studien aus verschiedenen Ländern von einem höheren Vorkommen der Appendizitis im Sommer berichtet (Stein et al. 2012; Noudeh et al. 2007; Gallerani et al. 2006; Oguntola et al. 2010; Addiss et al. 1990).

1.1.4 Anatomie der Appendix vermiformis

Die Appendix vermiformis befindet sich am blinden Teil des Caecums unterhalb der Ileoözökalklappe, wo sie über das Ostium appendicis vermiformis mit dem Lumen des Caecums verbunden ist. Sie ist etwa 7 cm lang und 7 mm dick.

In der Regel ist die Appendix vermiformis intraperitoneal gelegen. Selten kann sie bei Caecum fixum auch sekundär retroperitoneal gelegen sein. Meist befindet sie sich in der Fossa iliaca dextra. Lagevarianten durch embryonale Störungen der Darmdrehung, einen Situs inversus oder im Rahmen einer Schwangerschaft sind möglich (Tawk et al. 2012). Die häufigste Position der Appendix vermiformis ist retrozökal (65%), gefolgt von kaudaler Lage (30%) (Schiebler und Korf 2007).

In der Mesoappendix vermiformis verlaufen die versorgenden Leitungsbahnen. Die A. appendicularis aus der A. ileocolica erreicht die Appendix vermiformis als funktionelle Endarterie. Die venöse Drainage erfolgt über die V. appendicularis in die V. ileocolica. Lymphatisch drainiert die Appendix vermiformis über die Nll. appendiculares in die Nll. mesenterici superiores. Die sympathische Innervierung wird über die postganglionären Äste des Ganglion mesentericum superius gewährleistet. Die parasympathische Innervation erfolgt über den Truncus vagalis und seine Äste.

Der mikroskopische Wandaufbau der Appendix vermiformis gliedert sich von innen nach außen in Tunica mucosa, Tela submucosa, Tunica muscularis, Tela subserosa und Tunica serosa. In der Tela submucosa sind zahlreiche Lymphfollikel gelegen, die immunologisch aktiv sind. Tiefe Krypten in der Tunica mucosa stehen mit diesen in Verbindung (Innere Organe 2015).

1.1.5 Pathogenese

Pathogenetisch bedeutsam für die Entstehung einer akuten Appendizitis ist vor allem die Verlegung des Lumens zum Beispiel durch Kotsteine, Parasiten,

Narben oder Tumoren. Durch eine bakterielle Infektion, häufig mit *Bacteroides* spp., *E.coli* oder Streptokokken, bildet sich eine Entzündungsreaktion aus. Begünstigt wird dieser Prozess durch die verhältnismäßig schwach ausgebildete arterielle Versorgung der Appendix vermiformis über die funktionelle Endarterie A. appendicularis. Außerdem ist die Wand der Appendix vermiformis durch ihren mikroskopischen Aufbau mit einer scheringitterartigen muskulären Schichtung nur eingeschränkt dehnbar. Ein zusätzliches Hindernis vor dem Ostium appendicis vermiformis kann eine Gerlach Klappe sein (Becker und Höfler 2002).

1.1.6 Klinik und Diagnostik

Eine sorgfältige Anamnese ist für die Diagnosestellung einer akuten Appendizitis von großer Bedeutung. Bei typischem Verlauf beginnt das Krankheitsbild klinisch mit diffusen abdominellen Schmerzen (oft im Oberbauch), die vom Patienten nicht genau lokalisierbar sind. Häufig gehen Übelkeit, Erbrechen, Koprostase und Appetitlosigkeit mit dem Krankheitsbild einher. Es tritt meist leichtes Fieber auf und es kann eine axilloroktale Temperaturdifferenz von mehr als 0,5°C bestehen.

Später wandert der Schmerz durch die Entzündung des parietalen Peritoneums an den Ort der Entzündung in den rechten Unterbauch (Allgöwer 2006). In seltenen Fällen ist das Punctum maximum des Schmerzes an anderen Stellen durch eine Lagevariante der Appendix möglich (Tawk et al. 2012).

Bei Perforation der Appendix kann es vorübergehend zu einer Schmerzabnahme kommen. Bei der körperlichen Untersuchung ist oft ein Druckschmerz am McBurney-Punkt (am Übergang zum lateralen Drittel einer gedachten Linie zwischen Nabel und Spina iliaca anterior superior) und am Lanz-Punkt (am Übergang zum rechten lateralen Drittel einer gedachten Linie zwischen den beiden Spinae iliaca anteriores superiores) auslösbar. Im rechten Unterbauch kann eine Abwehrspannung vorliegen. Außerdem kann als Zeichen einer Peritonitis ein ipsi- und kontralateraler Loslassschmerz bestehen (Blumberg Zeichen). Das Psoaszeichen ist positiv, wenn bei Anheben des rechten Oberschenkels gegen Widerstand Schmerzen im rechten Unterbauch angegeben werden. Beim Ausstreichen des Kolons in Richtung der rechten Flexur können ebenfalls Schmerzen auftreten (Rovsing Zeichen)(Allgöwer

2006). Bei der digital-rektalen Untersuchung kann ein rechtsseitiger Druckschmerz vorhanden sein (Douglas Zeichen). Das Dunphy-Zeichen beschreibt Schmerzen im rechten Unterbauch beim Hustenstoß. Vom Obturatorzeichen wird gesprochen, wenn bei Innenrotation der Hüfte Schmerzen im rechten Unterbauch auftreten (Billmann und Keck 2017).

Die Anamnese und klinische Untersuchung scheinen die größte Bedeutung in der Diagnostik der akuten Appendizitis zu haben (Laurell et al. 2013; Lee et al. 2001).

In der laborchemischen Untersuchung werden C-reaktives Protein (CRP) und Leukozyten als unspezifische Entzündungsparameter untersucht. Ein erhöhtes CRP zeigt eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für eine komplizierte Appendizitis an. Bei einer Erhöhung auf über 99 mg/l liegt die Spezifität des Markers für eine komplizierte Appendizitis bei 90,3% (Sammalkorpi et al. 2015). Die Sensitivität und Spezifität der Leukozytenzahl als Marker ist bei einem *Cutoff* von 10000/ μ l mit 63% und 67% eher gering (Bealer und Colgin 2010). Sie geht in einige Appendizitisscores ein.

Des Weiteren wird häufig eine Bildgebung mittels Abdomensonographie durchgeführt. Dabei können sich ein Kokardenphänomen der Appendix und freie Flüssigkeit im Abdomen zeigen. Reduzierte Aktivität der Dünndarmschlingen kann ebenfalls ein Hinweis auf eine akute Appendizitis sein (Lehmann et al. 2000). Zudem können mögliche Differentialdiagnosen, wie zum Beispiel die Cholezystitis oder die Nierenkolik mit Harnaufstau durch die Abdomensonographie festgestellt werden. In einer radiologischen Studie lagen Sensitivität und Spezifität der Diagnosestellung einer akuten Appendizitis durch Nutzung der Sonographie bei etwa 84% und 91,5%, wenn sie durch einen Radiologen durchgeführt wird. Bei Notfallmedizinern lag die Sensitivität und Spezifität deutlich niedriger, bei 73% und 83%. (Karimi et al. 2017). Eine andere Studie gibt für die ultraschallgestützte Diagnosestellung einer akuten Appendizitis eine Sensitivität von 48,4% und eine Spezifität von 97,9% an (Lourenco et al. 2016).

In unklaren Fällen kann eine Computertomographie (CT) diagnostisch hilfreich sein. Bei Kindern kann sie die Rate an negativen Appendektomien senken (Kaiser et al. 2002). Dennoch sollte sie nur nach sehr strenger Indikationsstellung durchgeführt werden, da langfristige negative Folgen der

Strahlenbelastung durch die Computertomographie auftreten können (Brenner et al. 2001).

Die genannten Appendizitiszeichen und diagnostischen Hilfsmittel finden zum Teil Aufnahme in verschiedenen Appendizitisscores. In den Alvarado-Score gehen Schmerzwanderung, Appetitlosigkeit, Übelkeit/Erbrechen, Schmerzen des rechten unteren Quadranten (zweifach), Loslassschmerz, erhöhte Temperatur, Leukozytose (zweifach) und Linksverschiebung ein (Alvarado 1986). Weitere Scoresysteme sind z.B. der Eskelinen Score, der Ohmann Score und der RIPASA Score (Eskelinen et al. 1994; Ohmann et al. 1995; Chong et al. 2010). Diese Scores werden in verschiedenen Veröffentlichungen gegeneinander evaluiert. Laut Erdem et al. zeigen der Ohmann Score und der RIPASA Score mit 83,1% die höchste Sensitivität der genannten Scoresysteme gegenüber 80,5% Sensitivität des Eskelinen Scores und 81% Sensitivität des Alvarado Scores (Erdem et al. 2013). In der indischen Bevölkerung scheint bei akuter Appendizitis der RIPASA Score mit einer Sensitivität von 96,2% dem Alvarado Score mit einer Sensitivität von 58,9% deutlich überlegen zu sein (N et al. 2014).

1.1.7 Therapie

Bei Diagnose einer akuten Appendizitis besteht die Indikation zu einer Appendektomie. Diese kann entweder offen-chirurgisch oder laparoskopisch erfolgen.

Die offen-chirurgische Operationsmethode über die McBurney Inzision bietet einen leicht zu erlernenden und zügigen Zugang zur Appendix. (Billmann und Keck 2017)

Vorteile der laparoskopischen Operationsmethode sind unter anderem die selteneren Wundinfektionen und der kürzere Krankenhausaufenthalt (Yaghoubian et al. 2012), aber auch die Möglichkeit einer Untersuchung der gesamten Abdominalhöhle und somit die Möglichkeit andere Differentialdiagnosen auszuschließen. Besonders geeignet ist das laparoskopische Vorgehen durch die niedrigere Rate an Wundheilungsstörungen insbesondere bei übergewichtigen Patienten (Oravsky et al. 2014; Sahm et al. 2015). Es ist mit einem besseren klinischen Verlauf bei älteren Patienten assoziiert (Ward et al. 2014; Masoomi et al. 2012). Die Rate

an Appendektomien ohne histopathologischen Nachweis einer Appendizitis ist bei laparoskopischen Appendektomien, die keine Gelegenheitsappendektomien sind, höher als bei konventionellen Eingriffen, insbesondere bei Frauen im reproduktiven Alter (Flum et al. 2001).

Auch eine Erstlinien-Therapie mit Antibiotika wird diskutiert (Hansson et al. 2012). Das operative Vorgehen scheint der konservativen Therapie mit Antibiotika allerdings zurzeit im Allgemeinen überlegen zu sein und stellt daher den Gold-Standard dar (Kirby et al. 2015; Varadhan et al. 2012). Einige Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass eine antibiotische Therapie bei unkomplizierter Appendizitis der operativen Therapie nicht immer unterlegen ist. In 70 von 256 Fällen musste jedoch beispielsweise in der Studie von Salminen et al. trotz initialer antibiotischer Therapie eine Appendektomie im Verlauf erfolgen (Salminen et al. 2015; Talan et al. 2017). Weitere Studien mit größerem Patientenkollektiv sind erforderlich, um die mögliche Überlegenheit der antibiotischen Therapie bei akuter Appendizitis zu untersuchen.

Eine antibiotische Therapie kann in speziellen Fällen, beispielsweise bei Kontraindikationen gegen eine Operation oder bei explizitem Patientenwunsch in Erwägung gezogen werden (Varadhan et al. 2012; Wilms et al. 2011).

1.1.8 Histopathologische Differenzierung

Histopathologisch können verschiedene Stadien der akuten Appendizitis abgegrenzt werden. Fließend geht das akut katarrhalische Stadium in das seropurulente Stadium sowie das ulcerophlegmonöse und das gangränöse Stadium über. Durch Ulzerationen und Gangrän kann es zur Perforation der Appendixwand kommen. Dann entsteht entweder ein perityphlitischer Abszess, wenn eine Abgrenzung des Abszesses zur freien Bauchhöhle durch Darmschlingen oder Omentum majus besteht oder es entsteht eine Peritonitis durch Eintritt von Pus in die Bauchhöhle (Allgöwer 2006).

1.1.9 Differentialdiagnose: Neurogene Appendikopathie

Bei fehlenden makroskopischen und histologischen Entzündungszeichen ist die neurogene Appendikopathie eine zu bedenkende Differentialdiagnose. Dabei liegen Nervenfaserverproliferate in der Appendixwand vor, die die Symptome einer akuten Appendizitis imitieren können (Becker und Höfler 2002).

1.2 Aktuelle Entwicklungen zur Verbesserung der Diagnosestellung der akuten Appendizitis

1.2.1 Operationsrisiken und Komplikationen

Trotz Anwendung vielfältiger Untersuchungstechniken bei Verdacht auf Appendizitis, bleibt die Diagnosestellung durch die hohe Anzahl an Differentialdiagnosen oft nicht einfach. Die Rate an negativen Appendektomien, also Appendektomien ohne histopathologischen Nachweis einer Entzündung der Appendix vermiformis liegt bei 7,7% bis 30,6%. Im Einzelnen zeigen sich in der Literaturrecherche diese Prozentwerte: 15,5% von 63707 nicht-inzidentellen Appendektomien (Flum et al. 2001), 14% von 316 Appendektomien (Laurell et al. 2013), 30,6% von 467 laparoskopischen Appendektomien (Lee et al. 2014), 7,7% von 168 Appendektomien (Tan et al. 2015), 21,6% von 1039 Appendektomien (March et al. 2014), 18,8-29% je nach Einsetzen präoperativer computertomographischer Diagnostik bei insgesamt 797 Appendektomien (Zoarets et al. 2014), 15% von 24697 Appendektomien mit deutlicher Reduktion der Rate über den Studienzeitraum von 9 Jahren (Charfi et al. 2014).

Noch 2001 schien sich die negative Appendektomierate trotz Einsatz bildgebender diagnostischer Verfahren im Verlauf der vorherigen Jahre nicht verändert bzw. reduziert zu haben (Flum et al. 2001). In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass sie sich durch den Einsatz selektiver Computertomographie von 29% auf 18,9% senken ließ (Zoarets et al. 2014). Eine andere Studie beschrieb eine Reduktion von ca. 21% auf ca. 9% (Charfi et al. 2014).

Die Appendektomie ist eine risikoarme Operation. Patienten, die innerhalb von 48 Stunden nach Symptombeginn operiert werden, erleiden in 94% der Fälle keine Komplikationen. Patienten, die erst nach mehr als 48 Stunden nach Symptombeginn operiert werden, erleiden in 83,4% der Fälle keine Komplikationen. Die 30-Tage-Mortalität liegt in diesen Fällen bei etwa 1,2%. Bei einer Appendektomie innerhalb 48 Stunden nach Symptombeginn ist die Mortalität mit 0,1% deutlich geringer (Fair et al. 2015). In einer anderen Studie wird die allgemeine 30-Tage-Mortalität nach Appendektomie mit 1,8%

angegeben. Ein komplikativer Verlauf trat in dieser Untersuchung in insgesamt 16% der Fälle auf (Margenthaler et al. 2003).

Mögliche Risiken und Komplikationen sind eine Appendixstumpfsuffizienz, Darmperforation, Blutungen mit resultierendem Transfusionsbedarf, postoperative Pneumonie, Sepsis, Wundheilungsstörungen, Abszesse, ein paralytischer oder mechanischer Ileus oder Narbenhernien (Fair et al. 2015). Bis zur vollständigen Genesung vergehen je nach Alter der Patienten und Schweregrad der Appendizitis 15 Tage bis zu etwa einem Monat (Koumarelas et al. 2014).

Da die Rate an negativen Appendektomien immer noch hoch und die Operation zwar risikoarm ist, aber dennoch insbesondere bei vorerkrankten Patienten Risiken trägt, sollte die Diagnosesicherheit der akuten Appendizitis weiter verbessert werden. Dies kann sowohl über klinische Diagnosescores, verbesserte Bildgebung, als auch über besonders sensitive und spezifische Laborparameter erfolgen (Andersson et al. 2014; Shogilev et al. 2014).

Im Folgenden werden in dieser Hinsicht interessante Laborparameter diskutiert.

1.2.2 Neue Biomarker bei akuter Appendizitis

In vielen Studien wurden bisher noch nicht routinemäßig verwendete Parameter untersucht, die bei der Diagnose der akuten Appendizitis dadurch von Bedeutung sein könnten, dass sie die Diagnose der akuten Appendizitis durch besondere Sensitivität und Spezifität erleichtern könnten. Einige Proteine sind zwar bei einer akuten Appendizitis erhöht messbar, tragen jedoch nicht zur Verbesserung der Diagnostik bei. Dazu gehören Interleukin-6 (IL-6), *Chemokine ligand 8* (CXCL-8), *Chemokine C-C motif ligand* (CCL-2), Serum Amyloid A (SAA), Matrix Metalloproteinase (MMP-9) und Myeloperoxidase (MPO) (Andersson et al. 2014; Paajanen et al. 2002).

Fibrinogen ist zwar bei akuter Appendizitis erhöht, allerdings als alleiniger Marker nicht geeignet die Diagnose zu erhärten (Menteş et al. 2012). Hyperbilirubinämie dagegen ist in einigen Studien als signifikanter Marker für eine akute Appendizitis und für die Wahrscheinlichkeit einer Perforation beschrieben worden (Al-Abed et al. 2015; Estrada et al. 2007; Hong et al. 2012). Eine andere Studie allerdings widerspricht diesen Ergebnissen (Beltran et al. 2009).

Procalcitonin scheint die Diagnosesicherheit nicht zu erhöhen, kann allerdings ein hilfreicher Laborparameter zur Erkennung einer komplizierten akuten Appendizitis sein (Wu et al. 2012).

Granulocyte-colony-stimulating-factor (GCSF) ist bei Kindern bei einer akuten Appendizitis erhöht und ist ein möglicherweise nützlicher Marker, der noch genauerer Evaluation bedarf (Allister et al. 2011).

Calprotectin (S100A8/A9) scheint ein besonders sensitiver Serummarker der akuten Appendizitis zu sein. Seine Sensitivität und Spezifität wird mit 93-96% und 16-54% angegeben (Bealer und Colgin 2010; Mills et al. 2012).

Ein weiteres Protein, das eine deutliche Erhöhung im Urin erkrankter Kinder zeigte, ist das *leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein* (LRG) (Kentsis et al. 2012; Kentsis et al. 2010). Dieses Protein wird im Urin erwachsener Patienten in dieser Arbeit weiter untersucht.

1.3 *Leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein* (LRG)

1.3.1 Grundlagen und Erkenntnisse aus experimenteller Forschung

Zum ersten Mal wurde das *leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein* (LRG) aus menschlichem Serum im Jahr 1977 von Haupt und Baudner isoliert. Es ist ein Glykoprotein, das den α 2-Globulinen zuzuordnen ist. Der Kohlenhydratanteil von LRG beträgt 23%. Es zeigt ein besonders hohes Vorkommen an Leucin. Die mittlere Konzentration im Serum beträgt laut Haupt et al. etwa 2,1 mg/dl (Haupt und Baudner 1977). In der Studie von Weivoda et al. wird eine mittlere Konzentration von 50 μ g/ml im Serum angegeben (Weivoda et al. 2008).

Die molekulare Struktur von LRG wurde Anfang der achtziger Jahre zunehmend erforscht und eine quantitative immunologische Bestimmung wurde möglich (Schwick und Haupt 1981). Takahashi et al. entwickelten eine Methode, mit der es möglich wurde, die Primärstruktur von LRG zu analysieren (Takahashi et al. 1984). So konnte sie 1985 komplett bestimmt werden.

Das Gen für LRG ist auf Chromosom 19 (19p13.3) lokalisiert (O'Donnell et al. 2002). LRG besteht aus einer Polypeptidkette und einem Galaktosamin und vier Glucosamin-Oligosacchariden. Die Polypeptidkette enthält 312

Aminosäurereste. Davon sind 66 Leucine. Die Kette kann in 13 Segmente mit jeweils 24 Aminosäuren unterteilt werden. Davon zeigen 8 Segmente eine periodische Wiederholung des Aminosäuremusters mit Auftreten von Leucin, Prolin und Asparagin (Takahashi et al. 1984). Diese Sequenzen entsprechen sogenannten, auch bei anderen Proteinen bekannten, *Leucine-rich-repeats*. Bei den α - und β - Ketten von Glykoprotein Ib mit ihren Leucin-reichen Sequenzen bestehen Ähnlichkeiten mit LRG (Lopez et al. 1988). Ein ebenfalls verwandtes Protein ist das *leucine-rich HEV glycoprotein* (LRHG) (Saito et al. 2002).

Leucine-rich-repeats bieten vielfältige Möglichkeiten für die Bildung von Protein-Protein Interaktionen (Kobe und Kajava 2001). Takahashi et al. vermuteten, dass LRG aufgrund seiner Struktur und seiner Ähnlichkeit mit mitochondrialen Proteinen und Apolipoproteinen ein membranassoziiertes Protein sein könnte. Es beinhaltet auch einige Bereiche mit bipolaren Eigenschaften (Takahashi et al. 1984). Bis heute ist die physiologische Funktion von LRG nicht genau bekannt. LRG wird bei der Differenzierung von Neutrophilen hochreguliert und scheint ein Marker für die frühe neutrophile Granulozytendifferenzierung zu sein (O'Donnell et al. 2002). Bei Mäusen ist eine hohe LRG-Konzentration in der Leber zu finden, weniger im Herzgewebe und minimal in Milz und Lunge (O'Donnell et al. 2002). Des Weiteren scheint LRG der Klasse von sekretorischen Typ 1-Akute Phase Proteinen anzugehören. Typ 1-Akute Phase Proteine (IL-1 Typ Cytokine) werden durch Interleukin-1 (IL-1) und Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), sowie durch Interleukin-6 (IL-6) Typ Cytokine verstärkt exprimiert. Zu den Typ 1-Akute Phase Proteinen gehören zum Beispiel auch SAA und CRP (Baumann und Gauldie 1994). Zellexperimentell konnte nachgewiesen werden, dass sich die Menge mitochondrialer Ribonukleinsäure von LRG (LRG-mRNA) in HepG2 *human hepatoma cells* durch Stimulation mit IL-6, Interleukin-1 β (IL-1 β) oder TNF- α erhöht. Die Menge an hepatischer LRG-mRNA konnte auch durch die Herbeiführung einer akuten Inflammation bei Mäusen erhöht werden (Shirai et al. 2009).

LRG konnte als erster extrazellulärer Ligand für Cytochrom c ermittelt werden. Es übt im Serum eine inhibierende Wirkung auf Cytochrom c aus, welches eine Bedeutung bei der Apoptose hat (Cummings et al. 2006). LRG scheint durch Bindung von extrazellulärem Cytochrom c, das von apoptotischen Zellen

ausgeschüttet wird, Lymphozyten vor der Apoptose zu bewahren (Codina et al. 2010; Shirai et al. 2010).

2008 wurde von Weivoda et al. eine Methode vorgestellt, mit derer es erstmals möglich wurde, LRG im Serum mithilfe eines *Enzyme-linked Immunosorbent Assays* (ELISA) zu quantifizieren. Dabei stellt Cytochrom c den aufnehmenden Ligand dar. Interessanterweise zeigte sich keine Korrelation von CRP und LRG in Messungen von Patientensera (Weivoda et al. 2008).

1.3.2 Bedeutung von LRG bei gastroenterologischen und rheumatologischen Erkrankungen

LRG wird als potentieller Biomarker bei Hepatocellulärem Karzinom (HCC) beschrieben. Es zeigte sich in einer Studie eine 4,7 fache Überexpression von LRG in von HCC betroffenem Lebergewebe gegenüber benachbartem, nicht betroffenem Lebergewebe (Chaerkady et al. 2008). Bei acht Patienten, die aufgrund eines HCC eine kurative Radiofrequenzablation erhielten, stieg Serum-LRG nach der Therapie an (Kawakami et al. 2005). LRG scheint insbesondere bei einem durch eine Hepatitis-B-Virus (HBV) Infektion ausgelösten HCC erhöht zu sein (Sarvari et al. 2014).

LRG ist im Serum bei fortgeschrittener Leberfibrose bei Patienten mit Hepatitis-C-Virus (HCV) Infektion erniedrigt (Cheung et al. 2009). LRG ist auch bei durch HBV induzierter Leberfibrose erniedrigt (Lu et al. 2010; Ma et al. 2011).

Ebenso wie *Carbohydrate-Antigen* 19-9 (CA 19-9) und IL-6 ist LRG bei Cholangiozellulärem Karzinom (CCC) und Gallenblasenkarzinom erhöht nachweisbar (Sandanayake et al. 2011).

LRG wurde in der massenspektrometrischen Untersuchung von Plasma von fünf Patienten mit einem Pankreaskarzinom im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden erhöht nachgewiesen (Kakisaka et al. 2007).

Bei weiblichen Patienten mit Kolorektalem Karzinom (CRC) konnte LRG im Serum retrospektiv in Blutproben aus Kohortenstudien erhöht nachgewiesen werden, bereits bevor die Diagnose klinisch gestellt wurde (Ladd et al. 2012). Bei der Differenzierung zwischen adenomatösen Polypen und einem CRC könnte Plasma-LRG von Bedeutung sein (Choi et al. 2013).

LRG ist bei Patienten mit einem Magenkarzinom etwa zweifach erhöht gegenüber gesunden Patienten. Dennoch scheint es in der praktischen

Anwendung aufgrund geringer Sensitivität und Spezifität nicht als Biomarker geeignet zu sein (Uen et al. 2013).

LRG ist unabhängig von CRP bei einigen autoimmunen Erkrankungen erhöht, insbesondere bei rheumatoider Arthritis und Morbus Crohn (Serada et al. 2010). Patienten mit den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa zeigen jeweils erhöhte LRG-Werte im Serum (Serada et al. 2012; Gazouli et al. 2013; Shinzaki et al. 2017). Die Serumkonzentration von LRG ist bei rheumatoider Arthritis signifikant erhöht (Ha et al. 2014; Fujimoto et al. 2015).

1.3.3 Bedeutung von LRG bei neurologischen Erkrankungen

LRG konnte als signifikant erhöhter Biomarker im Liquor bei idiopathischem Normaldruckhydrozephalus detektiert werden. Es könnte auch eine Rolle im Rahmen der Pathogenese spielen. In Kombination mit anderen Biomarkern und Tests könnte es dazu beitragen, das *Outcome* von therapeutischen *Shunts* bei idiopathischem Normaldruckhydrozephalus vorherzusagen (Nakajima et al. 2011; Li et al. 2007). Im Alter steigt LRG in Astrozyten an. Es liegt im gesamten Gehirn vor, besonders hoch ist das Vorkommen in der tiefen Hirnrinde (Nakajima et al. 2012).

1.3.4 Bedeutung von LRG bei gynäkologischen Erkrankungen

In peritonealer Flüssigkeit von Patientinnen mit Leiomyomen konnte eine Isoform von LRG erhöht nachgewiesen werden (Ferrero et al. 2009). Auch im Plasma von Patientinnen mit Leiomyomen ist LRG erhöht (Lin et al. 2012).

LRG ist wie auch einige andere Proteine erhöht bei Ovarialkarzinom, ohne dass die genaue Relevanz bekannt ist (Boylan et al. 2010; Lin et al. 2009; Andersen et al. 2010; Mu et al. 2013). Serum-LRG scheint ähnlich gut als Biomarker bei Ovarialkarzinom geeignet zu sein wie *Cancer-Antigen 125* (CA 125) (Wu et al. 2013; Smith et al. 2014). Zudem ist LRG möglicherweise ein unabhängiger Biomarker beim Endometriumkarzinom (Wen et al. 2014).

1.3.5 Bedeutung von LRG bei weiteren Erkrankungen

Bei pulmonalarterieller Hypertonie ist LRG möglicherweise ein spezifischer prognostischer Biomarker (Zhang et al. 2009). LRG ist signifikant erhöht bei

Herzinsuffizienz und dabei sensitiver als *Brain Natriuretic Peptide* (BNP) (Watson et al. 2011).

Im Urin konnte LRG bei IgA-Nephropathie erhöht nachgewiesen werden (Kalantari et al. 2013). Es wurden qualitative Veränderungen von LRG bei Patienten mit einer Unterform von myelodysplastischem Syndrom gefunden (Majek et al. 2014; Májek et al. 2012). LRG ist signifikant im Plasma von Patienten mit einer H1N1 Infektion erhöht (Choi et al. 2014).

Auch bei Silikose konnten erhöhte Serumlevel gezeigt werden (Zeng et al. 2007). Im Tierversuch zeigte sich ein Anstieg von LRG bei mit SV infizierten Tieren (Wiederin et al. 2010).

LRG ist im Serum bei nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) erhöht (Liu et al. 2012). Auch bei Plattenepithelkarzinomen der Lunge könnte LRG von Bedeutung sein (Liu et al. 2012). LRG wurde auch im Urin von Patienten mit Blasenkarzinom untersucht, zeigte sich dort jedoch anderen Markern unterlegen (Lindén et al. 2012). Zudem scheint LRG eine Bedeutung als Tumormarker bei oralem Plattenepithelkarzinom zu haben (Tung et al. 2013; Chen et al. 2014).

LRG könnte möglicherweise auch zur Detektion exogener Wachstumshormonapplikation genutzt werden (Boateng et al. 2009; Kay et al. 2009).

1.3.6 Bisherige Forschungsergebnisse zu LRG bei akuter Appendizitis

Im Jahr 2010 veröffentlichten Kentsis et al. die Ergebnisse einer massenspektrometrischen Untersuchung von kindlichem Urin zur Identifikation von Proteinen, die als hilfreiche Laborparameter bei akuter Appendizitis dienen könnten. Sie untersuchten dabei neben anderen Markern auch LRG. Dabei zeigten sie, dass LRG im Gewebe erkrankter Appendizes vermehrt angereichert wird und dass es mit dem Schweregrad der Appendizitis korreliert. Es könnte also ein spezifischer Marker der lokalen inflammatorischen Antwort sein. Interessanterweise war es bei zwei Fällen einer histologisch gesicherten akuten Appendizitis erhöht, während die Bildgebung zuvor unauffällig war. LRG zeigte sich allerdings auch in Fällen von Pyelonephritis erhöht (Kentsis et al. 2010). Eine darauf aufbauende Forschungsarbeit von Kentsis et al. beschäftigte sich näher mit dem diagnostischen Wert von LRG bei akuter Appendizitis im

Kindesalter. Sie beschreibt das Auftreten von Interferenzen bei der Anwendung des ELISA für LRG. Bei der Verwendung von frischem Urin zeigte sich bei der Proteinkonzentration kein Unterschied zu gefrorenen Urinproben. Durch die *selected ion monitoring mass spectrometry* konnte gezeigt werden, dass LRG bei akuter Appendizitis mehr als 100-fach erhöht ist und die *Receiver operator characteristic-Area under the curve* (ROC AUC) 0,98 beträgt. Zum Vergleich beträgt die ROC AUC für CRP 0,76 (Kentsis et al. 2012).

Aufgrund der Menge und Vielfalt der Krankheitsbilder, bei denen bisher eine Erhöhung von LRG im Serum oder Urin nachgewiesen werden konnte, wäre es möglich, dass LRG bei akuter Appendizitis im Erwachsenenalter weniger spezifisch sein könnte, als im Kindesalter. Eine weiterführende Untersuchung könnte aber dennoch eine vielversprechende Weiterentwicklung der nicht-invasiven diagnostischen Möglichkeiten bei klinischem Verdacht auf eine akute Appendizitis darstellen.

1.4 Ziele der Arbeit

Die akute Appendizitis ist ein häufiges Krankheitsbild und die korrekte Diagnosestellung kann präoperativ schwierig sein. Daher kann es zu negativen Appendektomien kommen, also Operationen bei denen eine Laparoskopie oder Laparotomie mit Appendektomie durchgeführt wird, obwohl keine akute Appendizitis vorliegt. Verbesserte diagnostische Maßnahmen könnten möglicherweise negative Appendektomien verhindern.

Ein Ziel der Arbeit ist die Untersuchung der Sensitivität und Spezifität von Urin-LRG als Marker für akute Appendizitis im Erwachsenenalter. Die Bestimmung soll klären, ob durch LRG im Urin die Diagnosesicherheit verbessert werden kann.

Ein weiteres Ziel war es, die Höhe von LRG im Urin im Vergleich zur Höhe von anderen bereits häufig verwendeten Biomarkern bei entzündlichen Erkrankungen, dem CRP im Serum und der Leukozytenzahl im Blutbild, zu analysieren. Es sollte überprüft werden, ob LRG ein zusätzlicher zuverlässiger Biomarker für die Diagnose der akuten Appendizitis ist.

2. Material und Methoden

2.1 Vorbereitung und Probengewinnung

2.1.1 Wahl des Analyseverfahrens

Proteine können unter anderem über *Enzyme linked immunosorbent assays* (ELISAs) oder *Western Blots* nachgewiesen und quantifiziert werden. Auch für LRG ist ein ELISA z.B. über IBL International (Deutschland, Hamburg) erhältlich. Dieser zeigte jedoch im Rahmen von Voruntersuchungen unserer Arbeitsgruppe keine validen Ergebnisse, so dass alternative Nachweisverfahren evaluiert wurden. Auch Kentsis et al. berichteten 2011 über paradoxe Anstiege von LRG bei steigender Verdünnung ihrer Proben, so dass Interferenzen im Rahmen der Durchführung des ELISAs vermutet wurden (Kentsis et al. 2012). Daher wurde die auch in der Veröffentlichung von Kentsis et al. beschriebene Analyse mittels Massenspektrometrie gewählt. Die Proteomanalyse der gewonnenen Urinproben wurde im *Molecular Proteomics Laboratory* (MPL, Düsseldorf, Deutschland) durchgeführt. Dieses Labor ist ein Zentrallabor des Biologisch-Medizinischen Forschungszentrums (BMFZ) der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

2.1.2 Probengewinnung

Vor Beginn der Studie wurde das Einverständnis des Ethik-Komitees der Universität Düsseldorf eingeholt (Antragsnummer 3910, 1.8.2012). Die prospektive Studie wurde in der Allgemeinchirurgischen Notfallambulanz des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt. Die Probengewinnung begann am 19.12.2012 und endete am 25.06.2014. Voraussetzung zur Aufnahme in die Studie war das schriftliche Einverständnis der Probanden. Die Patienten mussten zudem älter als 18 Jahre alt sein und durften keine bekannten chronisch infektiösen Krankheiten haben. Es sollte ein möglichst breites Spektrum an Differentialdiagnosen der akuten Appendizitis mit in die Studie aufgenommen werden. Daher wurden alle Patienten als geeignet angesehen, die Bauchschmerzen als Vorstellungsgrund in der Ambulanz angaben. Alle Patienten erhielten einen schriftlichen Aufklärungsbogen über die Teilnahme an

der Studie, auf dem sie schriftliche Informationen zur Studie erhielten und weitere Angaben zur Anamnese machen konnten (siehe Anhang).

Die Patienten wurden gebeten, Mittelstrahlurin- und Speichelproben abzugeben. Eine zusätzliche Blutprobe wurde bei der im Rahmen der Diagnostik durchgeführten Blutentnahme abgenommen.

Die Urinproben wurden durch das Pflegepersonal in sterile Röhrchen der Marke BD (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) Vacutainer® Z (No Additive) REF364915 umgefüllt. Die Blutprobe wurde in ein steriles EDTA Probenröhrchen der Marke BD REF 368499 abgenommen. Die Speichelprobe wurde in ein steriles Röhrchen der Marke BD REF367819 gegeben. Umgehend wurden alle Proben in einem Fach eines auf +4°C temperierten Kühlschranks der Ambulanz gelagert, dessen Temperatur regelmäßig überprüft wurde, da dort auch kühlpflichtige Medikamente gelagert waren. Innerhalb von durchschnittlich 26,9 Stunden (minimal 0,7 Stunden; maximal 217 Stunden) wurde den Proben vom zuständigen Arzt bzw. Doktoranden eine fortlaufende Nummer zugeordnet und diese somit pseudonymisiert. Anschließend wurden die Urin- und Blutproben zentrifugiert. Die verwendete Zentrifuge war eine Eppendorf Centrifuge 5810R. Die Einstellungen waren 4°C, 1000 *revolutions per minute* (rpm), 3068 *relative centrifugal force* (rcf) 9,5G, Laufzeit 10 min. Anschließend wurden die Urin- und Blutproben aliquotiert. Dafür wurde eine Eppendorf Pipette Research Plus 1000µl und passende Pipettenspitzen (Tip One® StarLab 1000µl, XL, Graduated, Filter Tip (Sterile) Cat. No. S1122-1830) verwendet. Jeweils 500 µl der jeweiligen Probe wurden in Sarstedt Mikroröhren 0,5 ml mit Verschluss (REF72.730.007) pipettiert.

Dabei wurde Urin ohne abgelagertes Sediment und Serum ohne die herabzentrifugierten Blutbestandteile pipettiert. Die Mikroröhren wurden ausschließlich mit der zugeordneten Nummer und der Probenart (Urin, Blut) beschriftet. Die Speichelproben wurden ohne vorherige Zentrifugation ebenfalls in Sarstedt Mikroröhren 0,5 ml mit Verschluss (REF72.730.007) pipettiert.

Anschließend wurden die befüllten und beschrifteten Mikroröhren bei -80°C in einem Tiefkühlgerät tiefgefroren. Die Einhaltung der Temperatur wurde regelmäßig durch das Laborpersonal überwacht.

Nach Abschluss der Probenakquirierung wurden die Proben tiefgekühlt zum MPL überführt und dort sofort bei -80°C erneut gelagert.

In der vorliegenden Studie wurden ausschließlich die Urinproben analysiert. Für die Studie benötigte klinische und laborchemische Patientendaten wurden den Studienbögen für Patienten („Datenerhebungsbogen“) und der am Universitätsklinikum Düsseldorf verwendeten Patientendatenbank Medico (Siemens AG, Erlangen, Deutschland) entnommen. Zudem wurden die Notfallbriefe der Ambulanz eingesehen. Bei Diagnose einer akuten Appendizitis und erfolgter Operation wurden die histologischen Befunde abgerufen. Alle telefonisch erreichbaren Patienten, die nicht stationär aufgenommen wurden, wurden zudem im Verlauf telefonisch befragt, ob sie nach der Vorstellung am Universitätsklinikum Düsseldorf in einem anderen Krankenhaus an einer Blinddarmentzündung operiert worden sind.

2.2 Probenanalyse durch *Targeted Proteomics*: Massenspektrometrische Probenanalyse mittels *Selected Reaction Monitoring - Liquid Chromatography*- Tandem Massenspektrometrie (SRM LC-MS/MS)

2.2.1 Massenspektrometriebasierte Proteinquantifizierung

Das Proteom ist das gesamte Proteinvorkommen, das in einem Genom codiert ist. Seine Analyse, die Proteomik (*Proteomics*), wird unter anderem durch Massenspektrometrie ermöglicht (Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie 2014). Proteine bestehen aus Aminosäureketten. Kleine Proteine oder Teilstücke von Proteinen aus bis zu 100 verknüpften Aminosäuren nennt man Peptide.

Die massenspektrometrische Methode des *Selected Reaction Monitoring* (SRM) dient dem absolut-quantitativen Nachweis von spezifischen Proteinen in einer Probe. Dadurch können einzelne Proteine gezielt quantifiziert werden (*targeted proteomics*). Mithilfe dieser Methode können also nur Proteine quantifiziert werden, nach denen aktiv gesucht wird. Neue, unbekannte Proteine werden nicht detektiert. Die Proben werden durch Spaltung der Proteine in Peptide, Flüssigchromatographie (*High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC)) und Elektrospray-Ionisation (ESI) vorbereitet und mithilfe des SRM in einer Tandem Massenspektrometrie analysiert.

2.2.2 Probenvorbereitung

Die Proteine der jeweiligen Probe müssen zunächst durch Peptidasen in Peptide gespalten werden.

Die 109 Urinproben, der in die Studie aufgenommenen Patienten mit Bauchschmerzen, wurden im Labor des MPL aufgetaut, bei 1000 g und 4°C über die Dauer von 5 Minuten zentrifugiert und der jeweilige Überstand (360 µl) anschließend in 3 kDa *cutoff spin filters* (Millipore) bei 14000 g und 4°C über die Dauer von 1 Stunde konzentriert. 400 µl wässrige Lösung mit 8 M Urea und 50 mM Tris (pH 7,4) wurde den Proben zugefügt und eine weitere Zentrifugation bei 14000 g, 18°C über die Dauer von 1 Stunde durchgeführt.

Die nun konzentrierten Proteine wurden anschließend durch Zugabe von 100 µl Reduzierpuffer (10 mM DTT, 8 M Urea, 50 mM Tris, pH 7,4) über die Dauer von 45 Minuten bei Raumtemperatur reduziert. Um die Thiole zu alkylieren wurde den Proben 10 µl einer alkylierenden Lösung (0,55M Iodoacetamide, 8 M Urea, 50 mM Tris, pH 7,4) zugefügt und die Säule 30 Minuten in Dunkelheit und bei Raumtemperatur inkubiert.

Anschließend wurden die Proben bei 14000 g, 18°C für 30 Minuten zentrifugiert. Dann wurde 300 µl Verdaupuffer (wässrige Lösung mit 50 mM Ammoniumhydrogencarbonat (NH₄HCO₃)) zugegeben und die Proben für die Dauer von 45 Minuten bei 14000 g und 18°C konzentriert. Dieser Schritt wurde mit 400 µl Verdaupuffer und 60 Minuten Zentrifugationsdauer wiederholt.

Nun konnten die aufkonzentrierten Proteine gewonnen und die Proteinkonzentration durch ein 660 nm *Proteinassay* (Pierce/Thermo Scientific) bestimmt werden.

1,5 µg Protein wurde bei 37°C über Nacht in einem Gesamtvolumen von 20,9 µl Verdaupuffer und 0,03 µg Trypsin verdaut. Der Verdau wurde durch das Zufügen von 69 µl 0,1% Trifluoressigsäure beendet.

Um später eine absolute Quantifizierung der gewünschten Proteine vornehmen zu können, wurde bei der Probenvorbereitung ein Peptidstandard mit einer definierten Menge von schweren Peptiden (*heavy peptides*) zugefügt. Unter anderem wurden drei verschiedene synthetische Peptide zugegeben, die tryptischen LRG Peptiden entsprechen (GQTLLAVAK, VAAGAFQGLR, DLLLPQPDLR). Bei den schweren Peptiden wurden die N-terminalen Aminosäuren mit schweren Isotopen gekennzeichnet. Eine definierte Menge

(siehe Anhang) der schweren Peptide wurde zu den tryptisch verdauten Urinproben gegeben und die Peptidmischung durch eine Festphasenextraktion (Oasis HLB μ Elution plate, Waters, Eschborn, Deutschland) nach dem Protokoll des Herstellers gereinigt.

Die gelösten Peptide wurden durch Vakuumkonzentration getrocknet und wieder in wässriger Lösung von 0,1% Trifluoressigsäure gelöst.

Schließlich konnten im nächsten Schritt jeweils 200 ng der Peptidmischung mithilfe der HPLC aufgetrennt werden. Dafür wurde das *ultrahighpressure liquid chromatography* (UHPLC) System UltiMate 3000 RSLCnano von Thermo Fisher Scientific (Bremen, Deutschland) verwendet.

Zunächst wurden die Peptide auf eine Vorsäule (Acclaim PepMap100 3 μ m C18 Partikelgröße, 100 Å Porengröße, 75 μ m innerer Durchmesser, 2 cm Länge, Thermo Scientific, Bremen, Deutschland), bei einer Flussrate von 20 μ l/min und unter Verwendung von 0,1% (v/v) TFA als mobiler Phase aufkonzentriert. Anschließend wurden die Peptide durch einen 20-minütigen Gradienten (5%-30% B; Lösung A entspricht 0,1% Ameisensäure in Wasser; Lösung B entspricht 80% Acetonitril, 10% Trifluoroethanol, 0,1% Ameisensäure in Wasser) getrennt. Dabei wurde eine Säule mit 75 μ m innerem Durchmesser, 15 cm Länge, C18, 2 μ m Partikelgröße (Acclaim PepMap RSLC, Thermo Fisher Scientific, Bremen, Deutschland) verwendet.

Es folgte die Injektion der Peptide ins Massenspektrometer. Dies erfolgte über eine nano-Elektrosprayquelle (Emitter: FS360-20-10-D; New Objective, Woburn, Massachusetts, USA). Hierbei wurden die Peptide ionisiert und gasförmig.

2.2.3 Probenanalyse

Zur anschließenden Probenanalyse wurde in dieser Studie die Methode des SRM mithilfe eines Triple- Quadrupol Massenspektrometers (QQQ), der „TSQ Vantage“ von Thermo Fisher Scientific, Bremen, Deutschland verwendet.

Beim SRM wird ein *Selected Ion Monitoring* (SIM) im Tandem Massenspektrometrie (MS/MS) Modus durchgeführt (Gross 2013). Durch diese Methode können Teile des Proteoms, also einzelne, spezifische Peptide analysiert werden.

Die TSQ Vantage wurde im positiven Modus betrieben und die Proben in das Massenspektrometer injiziert. Das QQQ besteht grundsätzlich aus drei Quadrupolen und einem Detektor. Das erste und dritte Quadrupol sind Filter, die in Quadrupol 1 (Q1) Peptide, in Quadrupol 3 (Q3) Übergänge (*transitions*) nach ihrem Masse zu Ladungsverhältnis (m/z) filtern. Sind sowohl Peptid als auch Übergang im Masse zu Ladungsverhältnis bei unterschiedlichen Proteinen gleich, können diese nicht auseinandergehalten werden. Daher wurden nur Peptide zur Detektion ausgewählt, die eindeutig zuzuordnende Massen für LRG und weitere Kontrollproteine zeigen. Im zweiten Quadrupol (Q2) kommt es zu einer Fragmentierung durch *collision induced dissociation* (CID), also kollisionsinduzierter Trennung der Ionen in Übergänge (*transitions*). Der zeitliche Abstand zwischen der Detektion von zwei unterschiedlichen Übergängen wird als Zykluszeit (*cycle time*) bezeichnet. Die Ionen werden an den voreingestellten Übergängen (*transitions*) erkannt. Diese muss das Gerät in einer im Millisekunden-Bereich liegenden Zeitspanne, der Verweilzeit (*dwell time*) erkennen, bevor es beginnt, den nächsten Übergang zu detektieren. Pro Protein werden in der Detektion mehrere Peptide und Übergänge gewählt, um die Genauigkeit zu erhöhen und Fehler zu vermeiden. In Vorexperimenten wurden zunächst die Wahl der Übergänge sowie die Kollisionsenergie optimiert um möglichst starke Signale bei geringen Interferenzen mit anderen Peptidsignalen zu erhalten.

In unserer Untersuchung wurde die Auflösung von Q1 und Q3 auf 0,7u FWHM eingestellt. Die Zykluszeit war 1 Sekunde (Verweilzeit: >50ms für jeden Übergang). Die Peptide wurden in Q2 mit Argongas über induzierte Kollisionen fragmentiert. Dabei waren die Kollisionsenergien spezifisch für jedes Peptid.

Der Instrumenten Scan Modus war iSRM. Drei primäre und zwei sekundäre Fragmentationen pro Peptid wurden gesammelt. Die erlaubte Zeit war 0,1 Minuten, Schwellenintensität 300 *counts*, und der dynamische Ausschluss wurde nach 3 Fragmentationen für 0,3 Minuten aktiviert.

Die bestimmten Massen der Peptide und Übergänge sind im Anhang in Tabelle 5 zusammengefasst.

2.3 Datenauswertung und Statistik

Die Datenauswertung erfolgte mithilfe von SPSS 23 (IBM SPSS Statistics, Armonk, New York, USA).

Zur deskriptiven Statistik wurden Mittelwerte und die dazugehörigen Standardabweichungen, der Median, sowie Prozentanteile definierter Gruppen berechnet.

Die Daten wurden über den Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung hin überprüft. Bei $p < 0,05$ wurden die Daten als nicht normalverteilt bezeichnet. Ein Teil der Daten wurde bei fehlender Normalverteilung der Rohdaten zunächst logarithmiert und so eine Normalverteilung hergestellt.

Außerdem wurde mithilfe der Levene Statistik die Varianzhomogenität geprüft. Als Nullhypothese dafür wurde festgelegt, dass die Varianzen der untersuchten Biomarker (Leukozyten, CRP, LRG) in den nach Diagnosen definierten Gruppen gleich sind. Bei $p < 0,05$ besteht eine Varianzheterogenität.

Bei vorhandener Normalverteilung wurde eine einfaktorielle *Analysis of Variance* (ANOVA) mit anschließendem post hoc-Tukey Test durchgeführt.

Da die einfaktorielle ANOVA, insbesondere die Welch-ANOVA als robust gegenüber Verletzungen der Normalverteilungsannahme gilt, wurde bei fehlender Normalverteilung der Daten eine Welch-ANOVA Analyse mit anschließendem Games-Howell post-hoc Test durchgeführt. Als Nullhypothese wurde festgelegt, dass die Mittelwerte des jeweiligen Biomarkers bei jeder Diagnose gleich sind. Die Biomarkerwerte sind intervallskaliert, die Diagnosegruppen nominalskaliert.

Zur Auswertung lagen 108 CRP-Werte der Patienten vor. Ein Wert eines Patienten mit Gastroenteritis war fehlend. Laborseitig wurde das CRP teilweise nicht klar definiert angegeben (z.B. $< 0,3\text{mg/dl}$). In diesem Fall wurde der Wert für die Auswertung dem oberen Wert gleichgesetzt (z.B. $< 0,3\text{mg/dl}$ entsprechend $0,3\text{mg/dl}$).

Wenn $p < 0,05$ war, wurden die Unterschiede zwischen den Ergebnissen als signifikant gewertet.

In der deskriptiven Statistik wurde der Einzelfall einer Ileitis terminalis bei M. Crohn mit aufgeführt. Für die Berechnung der Mittelwertdifferenzen mithilfe der

Welch-ANOVA wurde diese in die Gruppe der unspezifischen Bauchschmerzen aufgenommen, da eine Gruppe mit Einzelfall für die Analyse nicht zulässig ist. Ergänzend wurde bei Nicht-Normalverteilung der Daten auch der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, der das Ergebnis der Welch-ANOVA bestätigte. Im Anschluss wurden paarweise Untersuchungen mithilfe des unabhängigen T-Testes beziehungsweise mithilfe des Mann-Whitney U Tests errechnet.

Die graphische Darstellung erfolgte mithilfe von Boxplots. Hierbei entspricht der Querstrich innerhalb der Box dem Median, der untere Querstrich der Box dem unteren Quartil, der obere Querstrich dem oberen Quartil des Datensatzes. Die *Whisker* bilden den Wertebereich bis zum größten, beziehungsweise kleinsten Wert ab, der noch keinem Ausreißer entspricht. Mit einem Kreis sind Ausreißer markiert, die 1,5 bis 3-fach über oder unter den Quartilen liegen. Mit einem Stern sind Extremwerte markiert, die mehr als dreifach über oder unter den Quartilen liegen.

Um die Korrelation von Leukozytenzahl, CRP und LRG zu berechnen, wurde der Rangkorrelationskoeffizient r_s (Spearman's Rho) bestimmt.

Für Leukozytenzahl, CRP und LRG wurden eine *receiver operating characteristics* (ROC) Kurve erstellt und die *Area under the curve* (AUC), sowie Sensitivität und Spezifität mithilfe des Youden Index ermittelt.

3. Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

3.1.1 Anzahl, Geschlechts- und Altersverteilung der Patienten

Insgesamt wurden 109 Patienten in die Studie eingeschlossen. Davon waren 51 (46,8%) Patienten männlich und 58 (53,2%) Patienten weiblich. Der Mittelwert des Alters aller Patienten betrug 37,3 Jahre, der Median lag bei 30,8 Jahren.

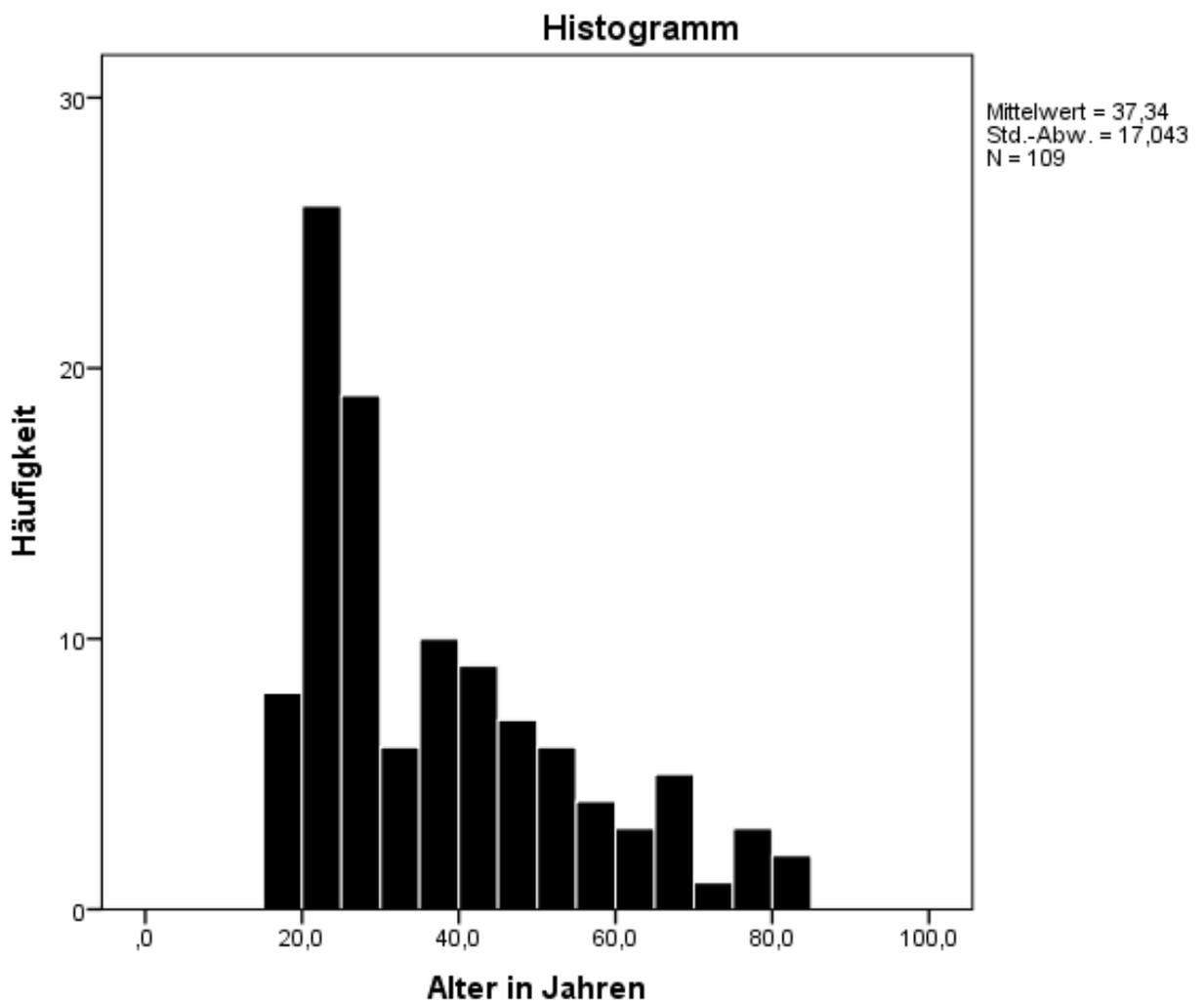


Abb. 1: Altersverteilung der Patienten

Das Histogramm veranschaulicht die Altersverteilung der in die Studie aufgenommenen Patienten mit deutlich mehr jüngeren Patienten als älteren Patienten.

Der jüngste Patient war 18,2 Jahre alt, der älteste Patient war 82,5 Jahre alt. In die Studie wurden deutlich mehr jüngere als ältere Patienten eingeschlossen (Abb. 1). 78% der Studienteilnehmer waren zwischen 18 und 50 Jahren alt.

Bei Patienten mit der Diagnose akute Appendizitis (n=14) lag der Mittelwert des Alters bei 40,3 (\pm 18) Jahren. Von diesen 14 Patienten waren 9 Patienten männlich und 5 Patienten weiblich.

3.1.2 Hauptdiagnosen und ihre Häufigkeit

Unter allen Patienten fanden sich 14 Patienten mit akuter Appendizitis (12,8%), 20 Patienten mit Harnwegsinfektionen (18,3%), sieben Patienten mit akuter Cholezystitis oder symptomatischer Cholezystolithiasis (6,4%), vier Patienten mit akuter Sigmadivertikulitis (3,7%), drei Patienten mit gynäkologischen Erkrankungen (2,8%), fünf Patienten mit Nierenkolik (4,6%), sieben Patienten mit Gastritis (6,4%), zehn Patienten mit akuter Gastroenteritis (9,2%), 3 Patienten mit Verdacht auf eine maligne Erkrankung (2,8%) und ein Patient mit Ileitis terminalis bei M. Crohn (0,9%).

Tabelle 1: Häufigkeitsverteilung der Diagnosen

	Häufigkeit	Prozent
Unspezifische Bauchschmerzen	35	32,1
Akute Appendizitis	14	12,8
Harnwegsinfekt	20	18,3
Cholezystitis/ Cholezystolithiasis	7	6,4
Sigmadivertikulitis	4	3,7
Gyn. Erkrankungen	3	2,8
Nierenkolik	5	4,6
Gastritis	7	6,4
Gastroenteritis	10	9,2
V. a. Malignom	3	2,8
Ileitis terminalis (M.Crohn)	1	0,9
Gesamt	109	100,0

Aufstellung der absoluten und prozentualen Häufigkeiten der erhobenen Diagnosen.

Bei 35 Patienten (32,1%) lagen andere Ursachen der akuten Bauchschmerzen vor, bei denen keine spezifische Diagnose gestellt werden konnte (Tabelle 1).

Bei den männlichen Patienten konnte bei 21 Patienten (41,2%) keine spezifische Diagnose (unspezifische Bauchschmerzen) gestellt werden. Bei 9 männlichen Patienten (17,6%) lag eine akute Appendizitis vor.

Bei den weiblichen Patienten waren die häufigsten Diagnosen die akute Harnwegsinfektion bei 20 Patientinnen (34,5%), unspezifische Bauchschmerzen bei 14 Patientinnen (24,1%), Gastroenteritis bei sechs Patientinnen (10,3%) und die akute Appendizitis bei fünf Patientinnen (8,6%).

Die meisten der in die Studie eingeschlossenen Patienten sind mit unspezifischen Bauchschmerzen entlassen worden (32,1%), gefolgt von der Diagnose Harnwegsinfektion (18,3%) und der Diagnose akute Appendizitis (12,8%).

3.2 Auswertung von Unterschieden der Höhe von LRG im Urin, Leukozytenzahl und CRP zwischen den Diagnosegruppen

3.2.1 LRG im Urin bei akuter Appendizitis

Der Mittelwert für Urin-LRG bei akuter Appendizitis lag bei 112,76 fmol/200ng Gesamtprotein, der Mittelwert von Urin-LRG aller Diagnosen bei 71,3 fmol/200ng Gesamtprotein. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant ($p=0,202$) (Abb. 2).

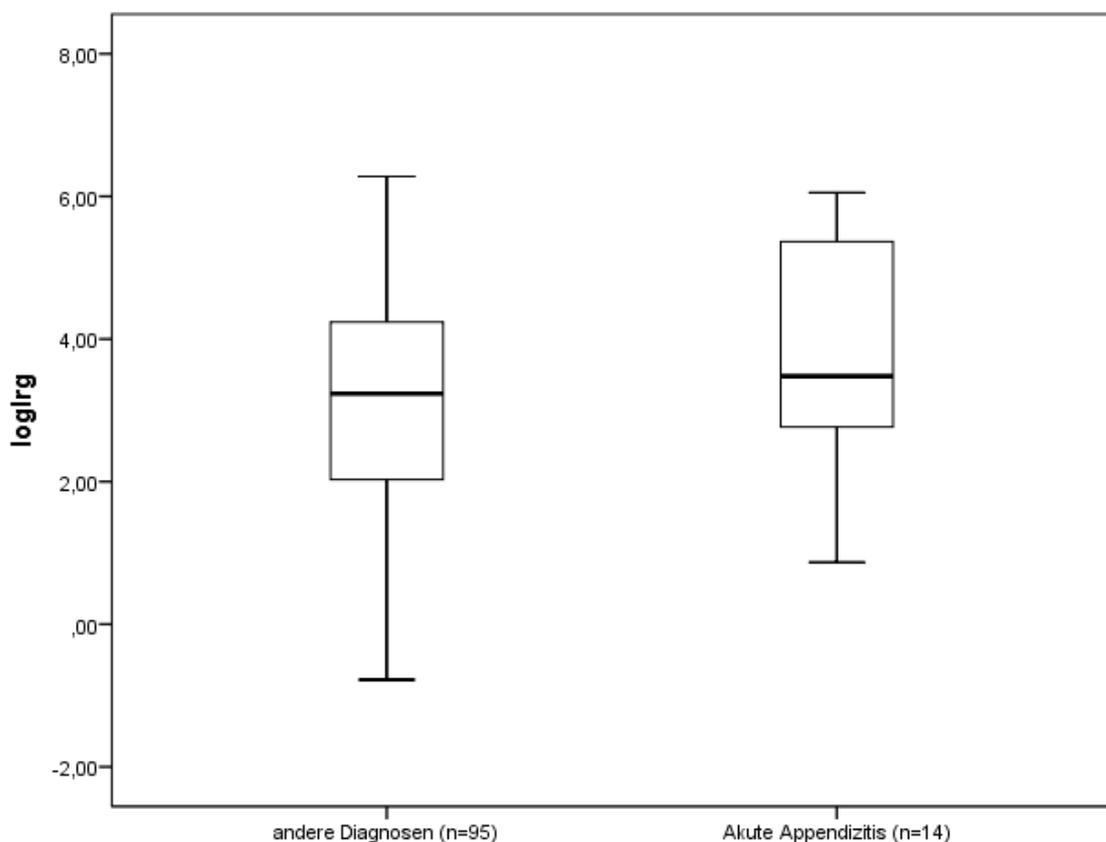


Abb. 2: Höhe von LRG im Urin bei akuter Appendizitis im Vergleich zu den anderen Diagnosen

Der Wert von LRG im Urin lag bei akuter Appendizitis tendenziell leicht höher, als bei anderen Ursachen für Bauchschmerzen. In der statistischen Auswertung zeigt sich kein signifikanter Unterschied (T Test für unabhängige Stichproben, $p=0,202$).

Abkürzungen: loglrg= logarithmierter Wert von LRG in fmol/200ng Protein, LRG=*leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*, fmol=femtomol, ng=nanogramm

LRG wies bei systemisch entzündlichen Erkrankungen wie der akuten Appendizitis, der Cholezystitis und der Sigmadivertikulitis signifikant höhere Werte als bei nicht-entzündlichen Erkrankungen auf. (t-Test für unabhängige Stichproben, $p=0,001$) (Abb. 3) Der Mittelwert für LRG lag bei Vorliegen einer akuten Appendizitis, Sigmadivertikulitis oder Cholezystitis bei 147,9 fmol/200ng Protein (SD +/- 165,3). Bei den sonstigen, nicht entzündlichen Erkrankungen lag der Mittelwert bei 48,5fmol/200ng Protein (SD +/- 70,3).

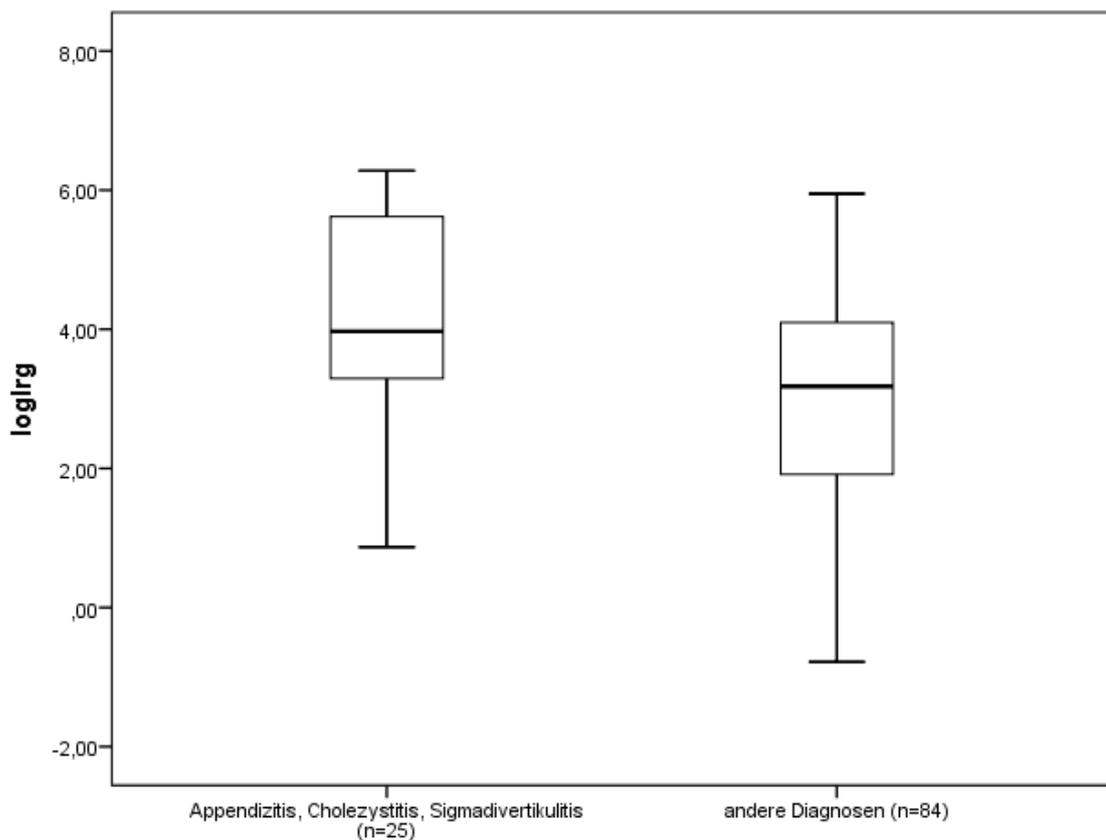


Abb. 3: Die Höhe von LRG bei Appendizitis, Cholezystitis und Sigmadivertikulitis gegenüber den anderen Diagnosen

Die Höhe von LRG unterschied sich bei den entzündlichen Erkrankungen Appendizitis, Cholezystitis und Sigmadivertikulitis signifikant von den anderen in dieser Studie beobachteten Diagnosen (T Test für unabhängige Stichproben, $p=0,001$).

Abkürzungen: loglrg= logarithmierter Wert von LRG in fmol/200ng Protein, LRG= *leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*, fmol=femtomol, ng=nanogramm

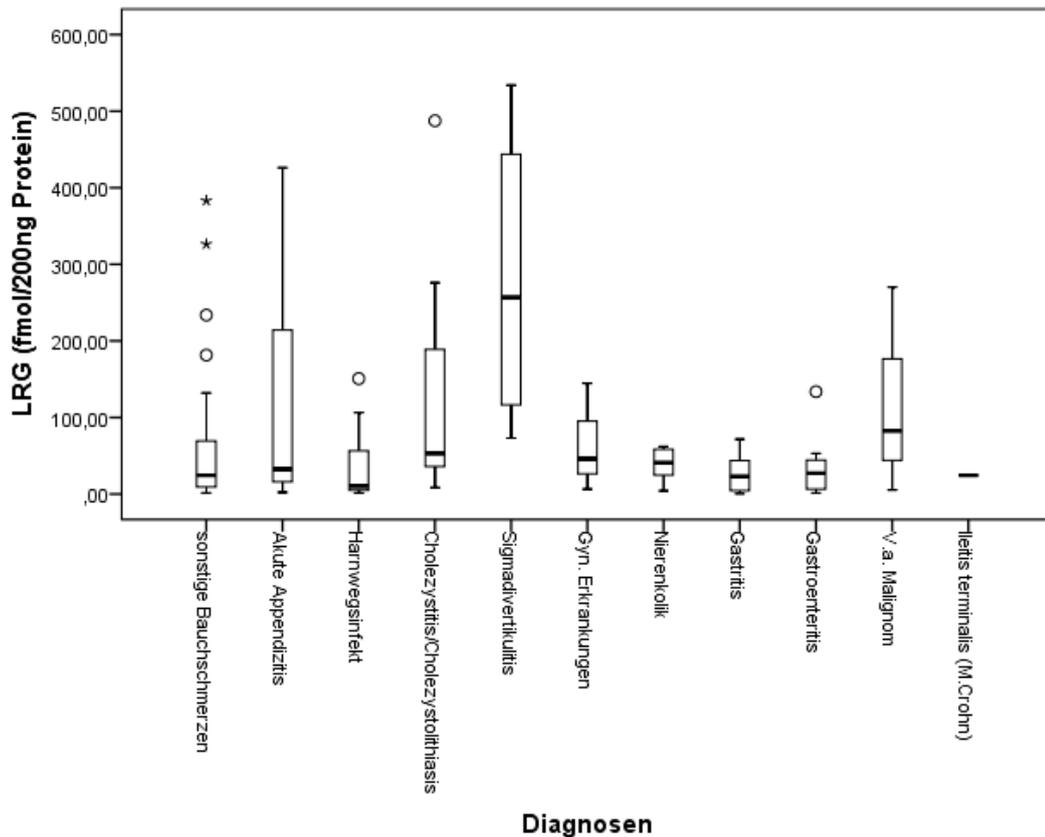


Abb. 4: Höhe von LRG im Urin bei verschiedenen Diagnosen

Hier wird die unterschiedliche Konzentration von LRG im Urin bei den verschiedenen Diagnosen veranschaulicht. Es wird deutlich, dass LRG insbesondere bei den systemisch entzündlichen Erkrankungen, der akuten Appendizitis, der Cholezystitis und der Sigmadivertikulitis im Vergleich zu den anderen Erkrankungen erhöht war. Dies bestätigt sich im T-Test mit einer Signifikanz von $p=0,001$. Die Gruppe Sigmadivertikulitis unterscheidet sich zudem signifikant von der Gruppe Harnwegsinfektion ($p<0,05$).

Abkürzungen: LRG= *leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*, fmol=femtomol, ng=nanogramm

Die Werte von LRG waren in den erhobenen Rohdaten nicht normalverteilt, Shapiro-Wilk Test, $p<0,01$. Nach Logarithmierung konnte eine Normalverteilung erreicht werden, Shapiro-Wilk Test $p=0,328$, so dass mit den logarithmierten Daten weiterverfahren wurde. Für logLRG zeigte sich im Levene-Test eine Varianzhomogenität ($p=0,855$), so dass eine einfaktorielle ANOVA mit anschließendem Tukey post hoc Test durchgeführt wurde. Das Ergebnis der einfaktoriellen ANOVA zeigte, dass sich die Höhe von LRG statistisch signifikant zwischen den verschiedenen Diagnosegruppen unterschied ($F(9,99)=2,26$, $p<0,05$). Im anschließenden Tukey-post hoc Test unterschied

sich die Gruppe Sigmadivertikulitis signifikant von der Gruppe akuter Harnwegsinfekt ($p < 0,05$), weitere statistisch signifikante Unterschiede insbesondere zwischen der akuten Appendizitis und anderen Diagnosen zeigten sich nicht (Abb. 4, Tabelle 2).

Tabelle 2: Tukey post-hoc Test zur Analyse der Mittelwertdifferenz von logLRG bei akuter Appendizitis und den sonstigen Diagnosen

(I) Diagnose	(J) Diagnose	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz (p-Wert)	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Akute Appendizitis	Unspezifische Bauchschmerzen	0,58	0,46	0,961	-0,92	2,08
	Harnwegsinfekt	1,13	0,51	0,458	-0,53	2,79
	Cholezystitis/Cholezystolithiasis	-0,49	0,68	0,999	-2,69	1,71
	Sigmadivertikulitis	-1,63	0,83	0,633	-4,32	1,07
	Gyn. Erkrankungen	0,19	0,93	1,000	-2,83	3,21
	Nierenkolik	0,44	0,76	1,000	-2,03	2,92
	Gastritis	1,29	0,68	0,669	-0,91	3,49
	Gastroenteritis	0,87	0,61	0,914	-1,1	2,84
	V.a. Malignom	-0,14	0,93	1,000	-3,17	2,88

Im Tukey post hoc Test zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Mittelwertdifferenzen von loglrg zwischen der Gruppe akute Appendizitis und den sonstigen Diagnosegruppen. Tendenziell ist zu erkennen, dass die Mittelwerte der Gruppen Cholezystitis, Sigmadivertikulitis und V.a. Malignom etwas höher lagen als bei der Gruppe akute Appendizitis.

Abkürzungen: loglrg= logarithmierter Wert von LRG (*leucine-rich 3.1-S-a2-glycoprotein*) in fmol/200ng Protein, fmol=femtomol, ng=nanogramm

3.2.2 Schweregrade der akuten Appendizitis nach histologischem Befund und Korrelation der Höhe von LRG mit dem Schweregrad

Bei den untersuchten Patienten mit akuter Appendizitis (n=14) lagen histologisch unterschiedliche Schweregrade vor (Abb. 5). Ein Patient hatte eine phlegmonöse Appendizitis ohne Peritonitiszeichen. LRG im Urin lag bei 277,1 fmol/200ng Protein.

Ein weiterer Patient hatte eine initial ulcerophlegmonöse Appendizitis ohne Peritonitiszeichen. LRG im Urin lag bei 5,3 fmol/200ng Protein.

Bei elf Patienten lagen schwere ulcerophlegmonöse Appendizitiden mit Perforation und/oder eitrig fibrinöser Peritonitis vor. Die Höhe von LRG im Urin schwankte hier zwischen 10,4 fmol/200ng Protein und 426,2 fmol/200ng Protein. LRG im Urin lag im Durchschnitt bei diesen Patienten bei 117,6 fmol/200ng Protein.

Eine Appendizitis zeigte sich histologisch als chronische Appendizitis im Narbenstadium. LRG im Urin lag hier bei 2,4 fmol/200ng Protein.

Aus diesen Werten lässt sich kein Hinweis auf eine Korrelation der Höhe von LRG im Urin mit dem Schweregrad einer akuten Appendizitis ableiten. Bei lediglich zwei leichtgradigeren Appendizitiden ohne Peritonitiszeichen war keine sichere Aussage möglich (Abb. 5).

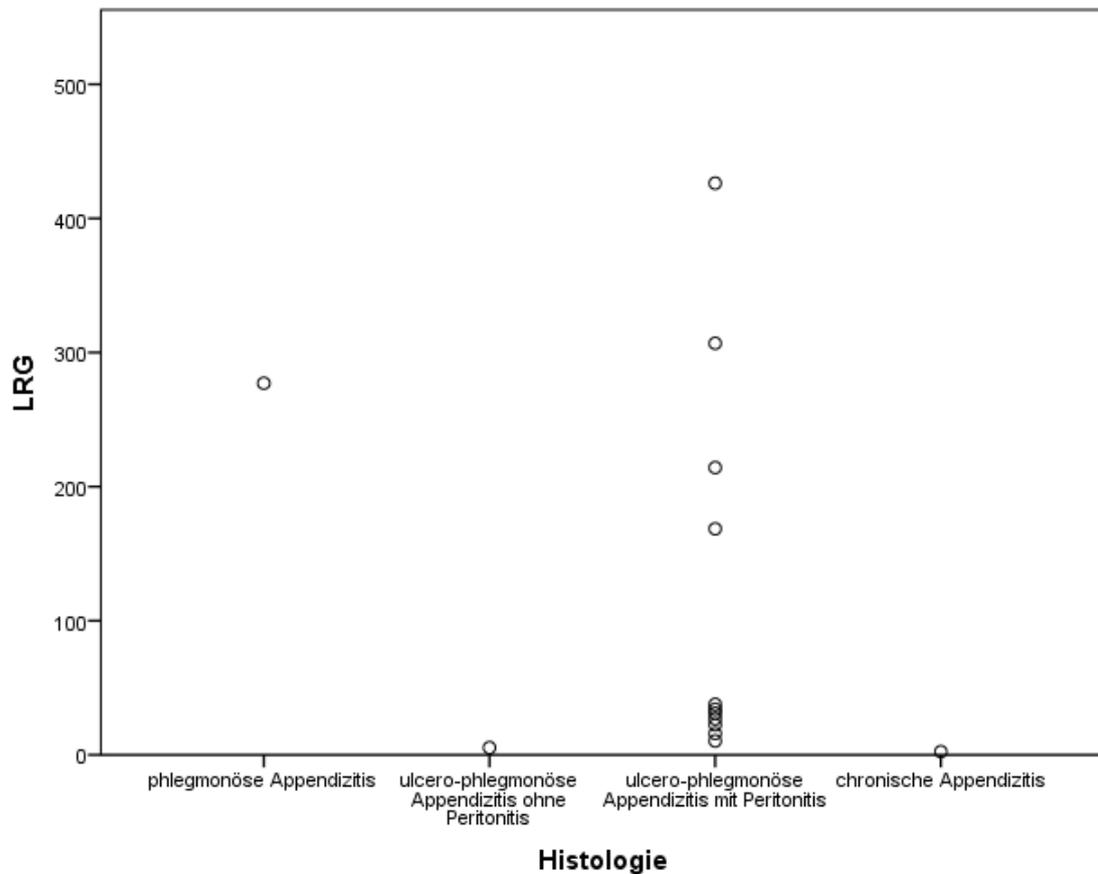


Abb. 5: LRG Konzentration im Urin bei akuter Appendizitis in fmol/200ng Protein in Bezug auf den histopathologischen Befund

Im Vergleich der durchschnittlichen LRG-Konzentration im Urin der Patienten mit den unterschiedlichen histopathologischen Schweregraden der Appendizitis zeigte sich kein Hinweis auf eine Korrelation des Urin-LRG mit steigendem Schweregrad der Erkrankung. Einschränkend für die Beurteilung ist jedoch die sehr geringe Fallzahl insbesondere der leichtgradigeren akuten Appendizitiden ohne Peritonitis.

Abkürzungen: LRG=*leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*, fmol=femtomol, ng=nanogramm

3.2.3 Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis und anderen Diagnosen

In den erhobenen Rohdaten ist die Leukozytenzahl nicht normalverteilt, Shapiro-Wilk Test, $p < 0,01$. Daher wurden die Werte logarithmiert und wiesen anschließend eine Normalverteilung auf, Shapiro-Wilk Test, $p = 0,708$. Im Folgenden wird mit den logarithmierten Daten weiterverfahren. In der Levene Statistik zeigte sich für Leukozyten eine Varianzhomogenität.

Bei akuter Appendizitis ist die Leukozytenzahl im Blutbild signifikant höher als bei der Kontrollgruppe (T Test für unabhängige Stichproben, $p < 0,001$) (Abb. 6).

Bei Vorliegen einer akuten Appendizitis mit Peritonitis lag der Mittelwert der Leukozytenzahl bei $15227/\mu\text{l}$ ($n=11$), bei fehlenden Peritonitiszeichen bei $13467/\mu\text{l}$ ($n=3$).

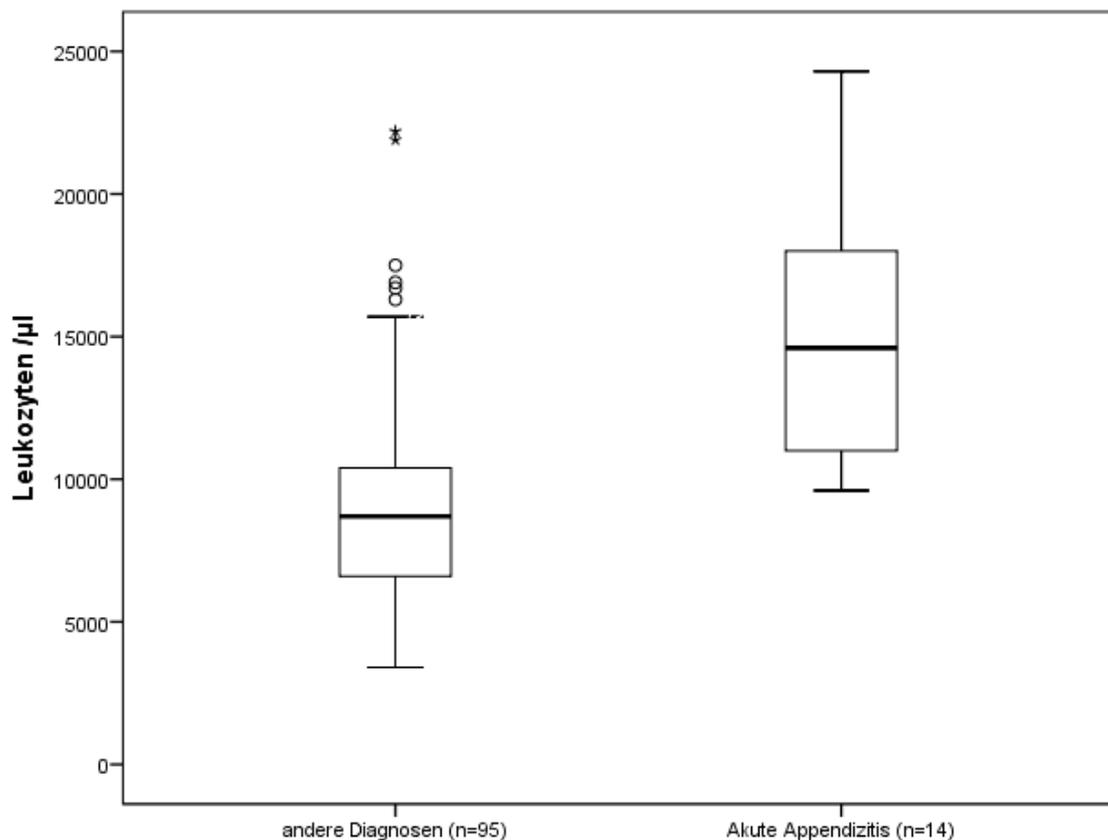


Abb. 6: Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis im Vergleich zur Leukozytenzahl bei den anderen Diagnosen

Die Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis ($n=14$) ist signifikant höher als bei den anderen in dieser Studie erhobenen Diagnosen ($n=95$) (T Test für unabhängige Stichproben $p < 0,001$).

Abkürzungen: μl =mikroliter

Die Leukozytenzahl war in dieser Untersuchung insbesondere bei der akuten Appendizitis und der Sigmadivertikulitis erhöht (Abb. 7).

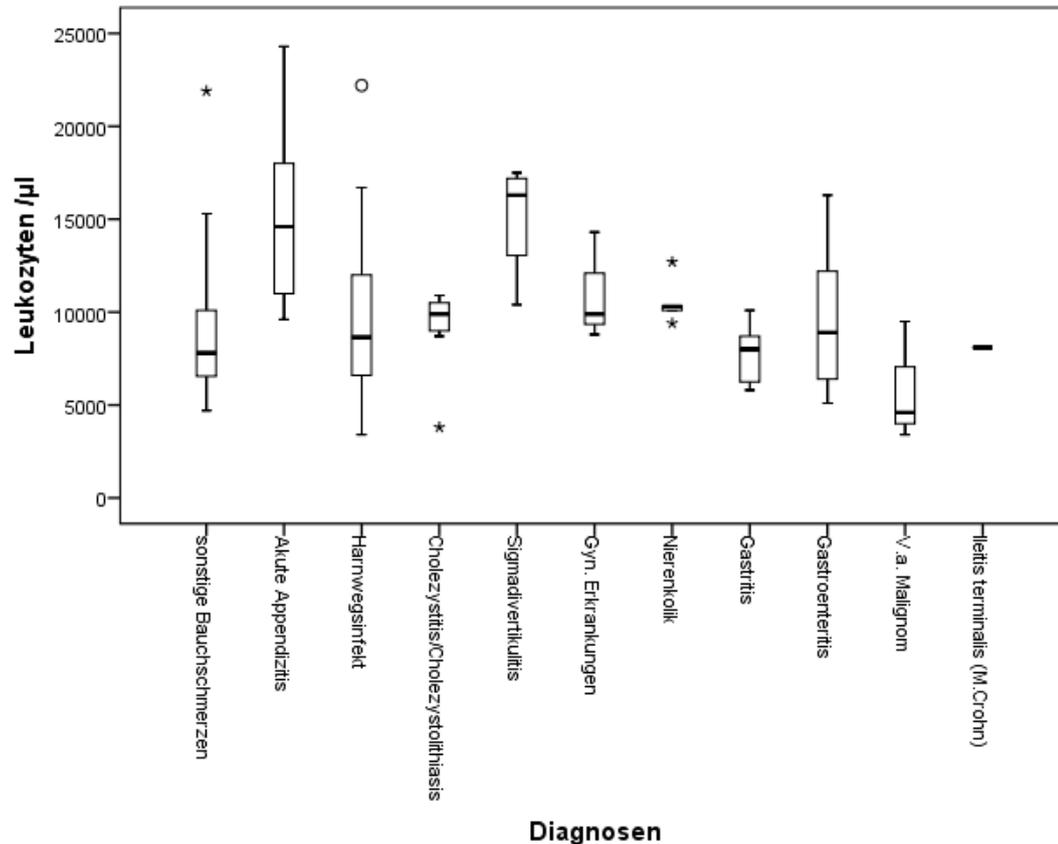


Abb. 7: Höhe der Leukozytenzahl bei verschiedenen Diagnosen

Der Boxplot veranschaulicht die Höhe der Leukozytenzahl in Bezug auf die verschiedenen Hauptdiagnosen. Es wird deutlich, dass die Leukozytenzahl im Vergleich zu unspezifischen Bauchschmerzen besonders bei akuter Appendizitis und bei Sigmadivertikulitis erhöht war.

Abkürzungen: µl=mikroliter

In der einfaktoriellen ANOVA zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Mittelwertdifferenzen unter den verschiedenen Diagnosegruppen $F(9,99)=4,933$, $p<0,001$.

Im anschließenden Tukey post-hoc Test zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe akute Appendizitis und unspezifische Bauchschmerzen ($p<0,001$), akute Appendizitis und Harnwegsinfekt ($p=0,007$), akute Appendizitis und Gastritis ($p=0,005$), akute Appendizitis und Gastroenteritis ($p=0,041$) und akuter Appendizitis und V.a. Malignom ($p=0,001$) (Tabelle 3).

Desweiteren zeigte sich die Mittelwertdifferenz der Leukozyten in der Gruppe Sigmadivertikulitis signifikant erhöht gegenüber der Gruppe V.a. Malignom ($p=0,007$).

Tabelle 3: Tukey post-hoc Test zur Analyse der Mittelwertdifferenz der Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis und den sonstigen Diagnosen

(I) Diagnose	(J) Diagnose	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz (p-Wert)	95%-Konfidenzintervall	
					Untergrenze	Obergrenze
Akute Appendizitis	Unspezifische Bauchschmerzen	0,54*	0,11	<0,001	0,18	0,89
	Harnwegsinfekt	0,47*	0,12	0,007	0,08	0,86
	Cholezystitis/Cholezystolithiasis	0,5	0,16	0,071	-0,02	1,02
	Sigmadivertikulitis	-0,04	0,2	1,000	-0,67	0,60
	Gyn. Erkrankungen	0,28	0,22	0,956	-0,43	1,0
	Nierenkolik	0,31	0,18	0,795	-0,28	0,89
	Gastritis	0,64*	0,16	0,005	0,12	1,16
	Gastroenteritis	0,47*	0,14	0,041	0,01	0,94
	V.a. Malignom	0,99*	0,22	0,001	0,28	1,71

Der Tukey post-hoc Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen akute Appendizitis und unspezifische Bauchschmerzen ($p<0,001$), akute Appendizitis und Harnwegsinfekt ($p=0,007$), akute Appendizitis und Gastritis ($p=0,005$), akute Appendizitis und Gastroenteritis ($p=0,041$) und akuter Appendizitis und V.a. Malignom ($p=0,001$).

3.2.4 Serum-CRP bei akuter Appendizitis

Die CRP Werte in den erhobenen Patientendaten waren nicht normalverteilt und ließen sich auch durch Logarithmieren nicht zu einer Normalverteilung transformieren, Shapiro-Wilk Test, $p < 0,01$. Für CRP zeigte sich außerdem im Levene-Test eine Varianzhomogenität ($p < 0,01$), so dass eine Welch-ANOVA durchgeführt wurde. Hier zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwertdifferenzen bei akuter Appendizitis und den anderen Diagnosegruppen besteht, Welch-Test $F(9, 16,989) = 3,865$, $p < 0,05$. Im Anschluss wurde ein Games-Howell post-hoc Test durchgeführt. Bei der Sigmadivertikulitis ist der CRP-Wert etwas höher (Mittelwertdifferenz 6,8mg/dl) als bei der akuten Appendizitis (Mittelwert: 5,1mg/dl) (Tabelle 4). Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen zeigte sich jedoch nicht.

Tabelle 4: Games-Howell post-hoc Test zur Analyse der Mittelwertdifferenz von CRP bei akuter Appendizitis und den sonstigen Diagnosen

Diagnose I	Diagnose J	Mittlere Differenz (I-J)	Standardfehler	Signifikanz (p-Wert)	95% Konfidenzintervall Untergrenze	95% Konfidenzintervall Obergrenze
Akute Appendizitis	Unspezifische Bauchschmerzen	3,98	1,46	0,249	-1,43	9,38
	Harnwegsinfekt	3,33	1,53	0,507	-2,20	8,85
	Cholezystitis/ Cholezystolithiasis	1,56	2,85	1,000	-9,67	12,78
	Sigmadivertikulitis	-6,78	5,44	0,922	-39,72	26,17
	Gyn. Erkrankungen	2,33	2,81	0,991	-14,3	18,96
	Nierenkolik	4,88	1,43	0,087	-0,48	10,24
	Gastritis	4,40	1,49	0,170	-1,05	9,85
	Gastroenteritis	2,30	1,7	0,928	-3,70	8,30
	V.a. Malignom	-4,03	6,42	0,997	-60,73	52,67

Die Tabelle zeigt das Ergebnis des Games-Howell post-hoc Test bezüglich der Mittelwertdifferenz von CRP (mg/dl) bei akuter Appendizitis (Mittelwert: 5,1mg/dl) und den übrigen Hauptdiagnosen. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Tendenziell scheint der CRP-Wert im Vergleich zum Mittelwert bei einer akuten Appendizitis, bei einer Sigmadivertikulitis oder bei einer malignen Erkrankung etwas höher zu sein.

Abkürzungen: CRP= C-reaktives Protein, mg=milligramm, dl=deziliter

Der Kruskal-Wallis-Test für nicht normalverteilte Daten bestätigte, dass die Verteilung von CRP in den unterschiedlichen Diagnosegruppen nicht identisch ist, $p < 0,001$.

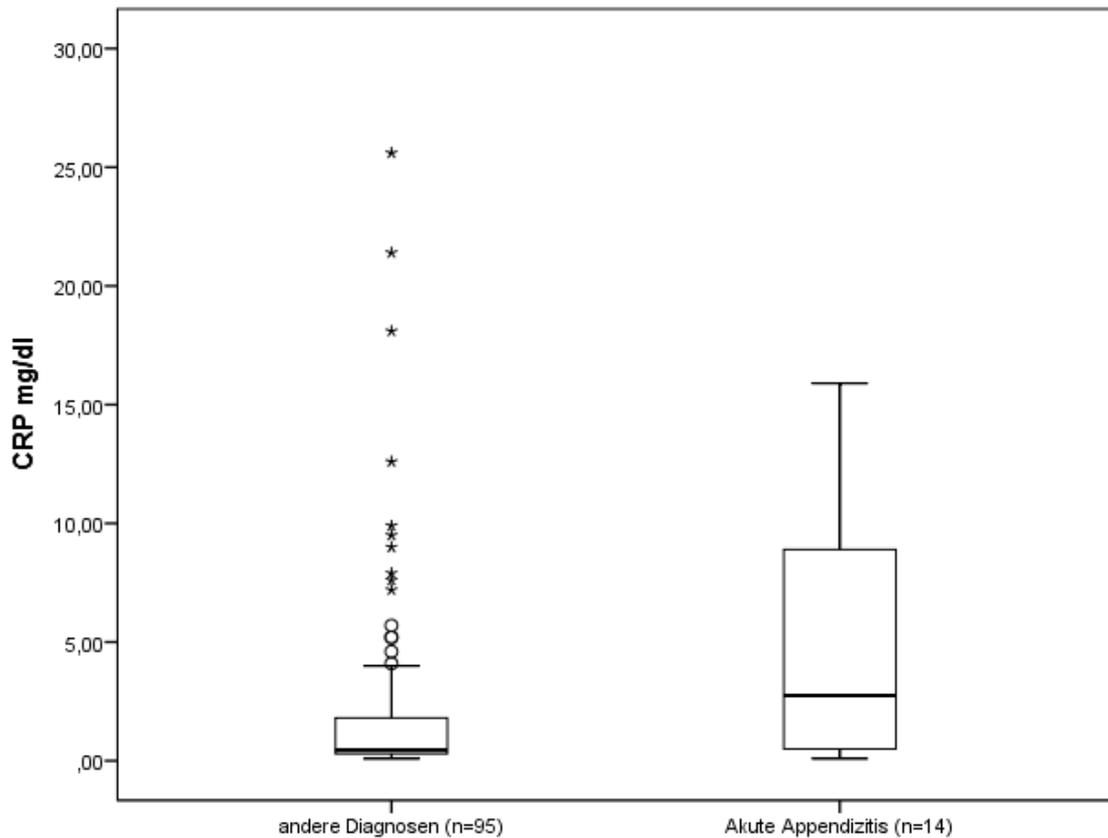


Abb. 8: Mittlere CRP Konzentration im Serum bei akuter Appendizitis im Vergleich zu den anderen Diagnosen

Der Boxplot zeigt, dass der Wert des CRP bei akuter Appendizitis ($n=14$) im Vergleich zu sonstigen Ursachen für Bauchschmerzen ($n=95$) signifikant höher war. Auf Basis der asymptotischen Signifikanz (2-seitig) kann gefolgert werden, dass sich die zentralen Tendenzen unterscheiden. (Mann-Whitney U Test, $z=-2,322$, $p=0,020$)

Abkürzungen: CRP=C-reaktives Protein, mg=milligramm, dl=deziliter

Im Mann-Whitney U Test wurde paarweise die Gruppe akute Appendizitis auf einen signifikanten Unterschied zu den anderen Diagnosegruppen hin überprüft. Hierbei zeigte sich ein signifikanter Unterschied zur Gruppe der unspezifischen Bauchschmerzen (Asymptotische Signifikanz: $z=-2,757$, $p=0,006$), Nierenkolik (Exakte Signifikanz: $U=7,000$, $p=0,007$) und Gastritis (Exakte Signifikanz: $U=18,500$, $p=0,020$).

Bei akuter Appendizitis (n=14) zeigte sich ein signifikanter Unterschied gegenüber allen anderen Ursachen von Bauchschmerzen (n=94), Mann-Whitney U Test (Asymptotische Signifikanz: $z=-2,322$, $p=0,020$), Abb. 8.

3.3 Korrelationen von Leukozyten, CRP und LRG

Um zu prüfen, ob Korrelationen zwischen der Höhe der Leukozytenzahl im Blutbild, der CRP Konzentration im Serum und der Menge von LRG im Urin bestehen, wurden Streudiagramme erstellt, sowie ergänzend die Spearman's Rho Korrelation für nicht normalverteilte Daten errechnet.

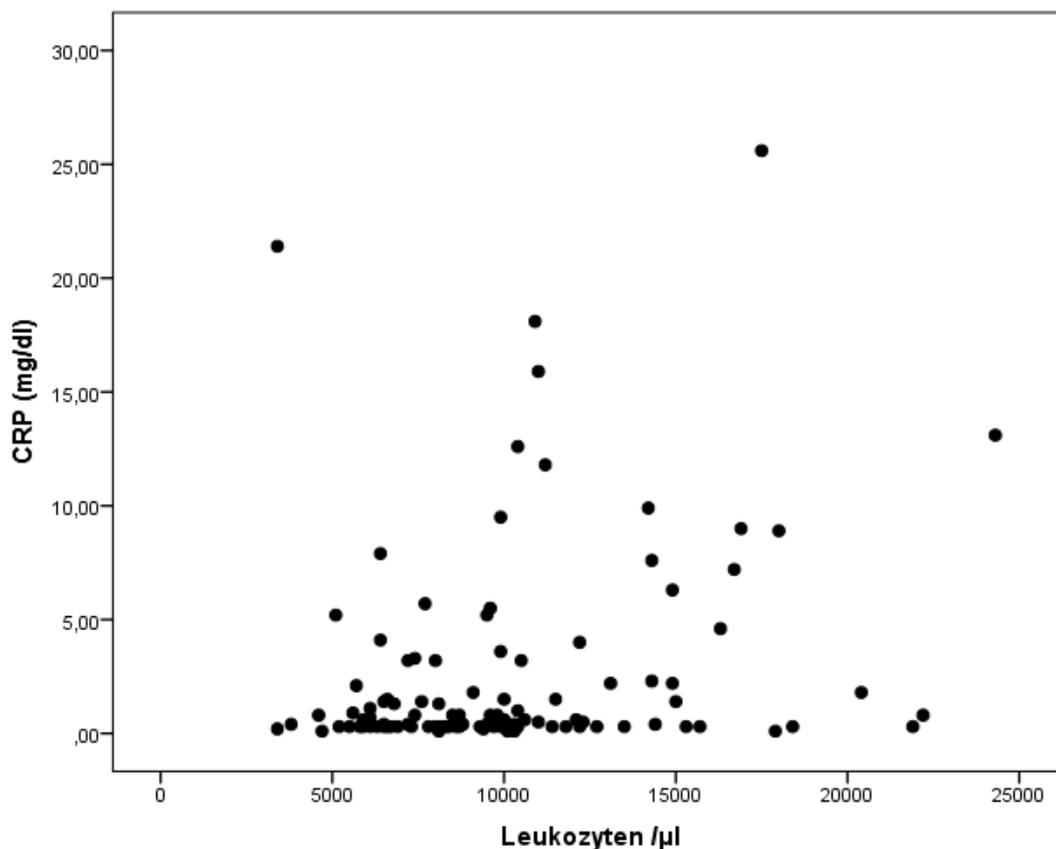


Abb. 9: Keine Korrelation zwischen Leukozytenzahl und CRP

Die Daten zeigen keine Anzeichen für einen linearen Zusammenhang zwischen der Höhe der Leukozytenzahl und des Serum-CRP-Wertes. Rechnerisch besteht mit der Spearman's Rho Korrelation für nicht normalverteilte Daten keine Korrelation ($r_s=0.198$, $p<0,05$).

Abkürzungen: CRP=C-reaktives Protein, mg=milligramm, dl=deziliter, µl=mikroliter

Graphisch zeigte sich kein Anhalt für einen linearen Zusammenhang zwischen der Leukozytenzahl und Höhe des CRP, sowie zwischen der Leukozytenzahl und Höhe des LRG (Abb. 9, Abb. 10).

Rechnerisch korrelierten Leukozytenzahl und Höhe des CRP beziehungsweise Leukozytenzahl und Höhe des LRG nicht miteinander bei einem Rangkorrelationskoeffizienten r_s von 0.198.

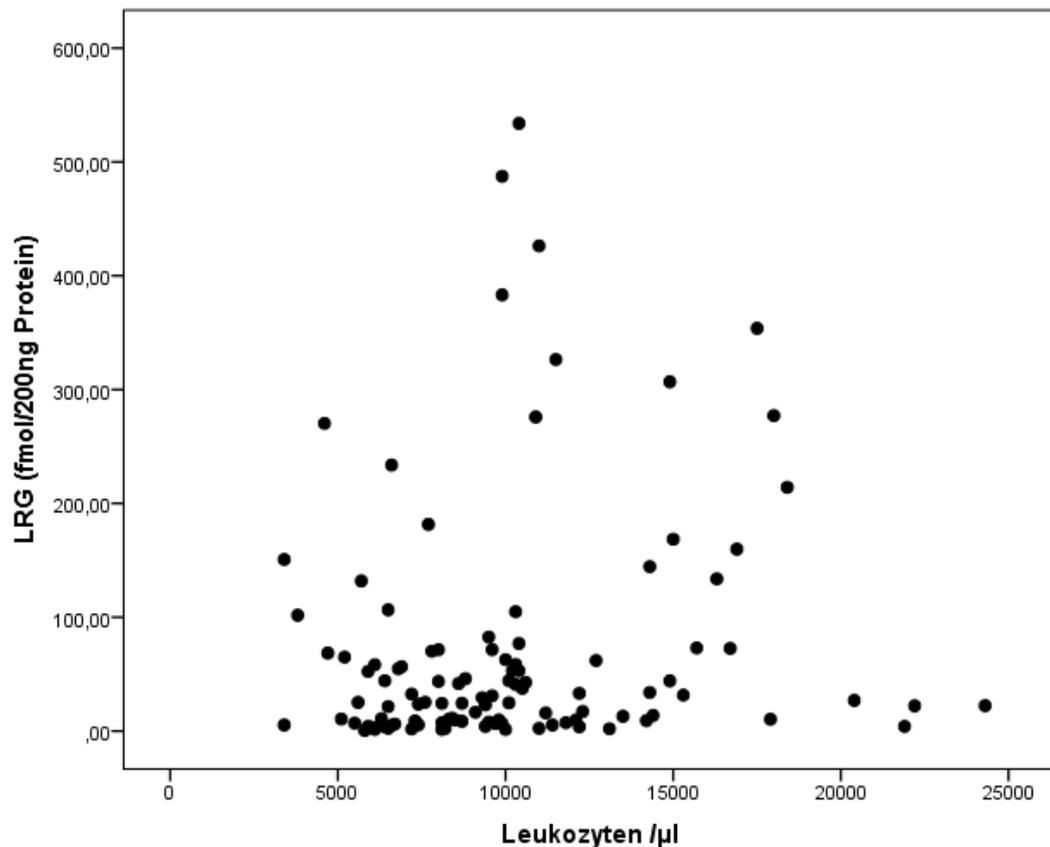


Abb. 10: Keine Korrelation zwischen Leukozytenzahl und LRG

Es lässt sich in der Graphik kein Anhalt für einen linearen Zusammenhang zwischen der Höhe der Leukozytenzahl und des Urin-LRG-Wertes erkennen.

Rechnerisch zeigte sich in der Spearman's Rho Korrelation für nicht normalverteilte Daten keine Korrelation. ($r_s=0.198$, $p<0,05$)

Abkürzungen: LRG (*leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*), fmol=femtomol, ng=nanogramm, μ l=mikroliter

Graphisch zeigten sich geringe Anzeichen für einen linearen Zusammenhang zwischen der Höhe des CRP im Serum und des LRG im Urin. Rechnerisch korrelierten beide Parameter in der Spearman's Rho Korrelation für nicht

normalverteilte Daten gering miteinander bei einem Rangkorrelationskoeffizienten r_s von 0.345 (Abb. 11).

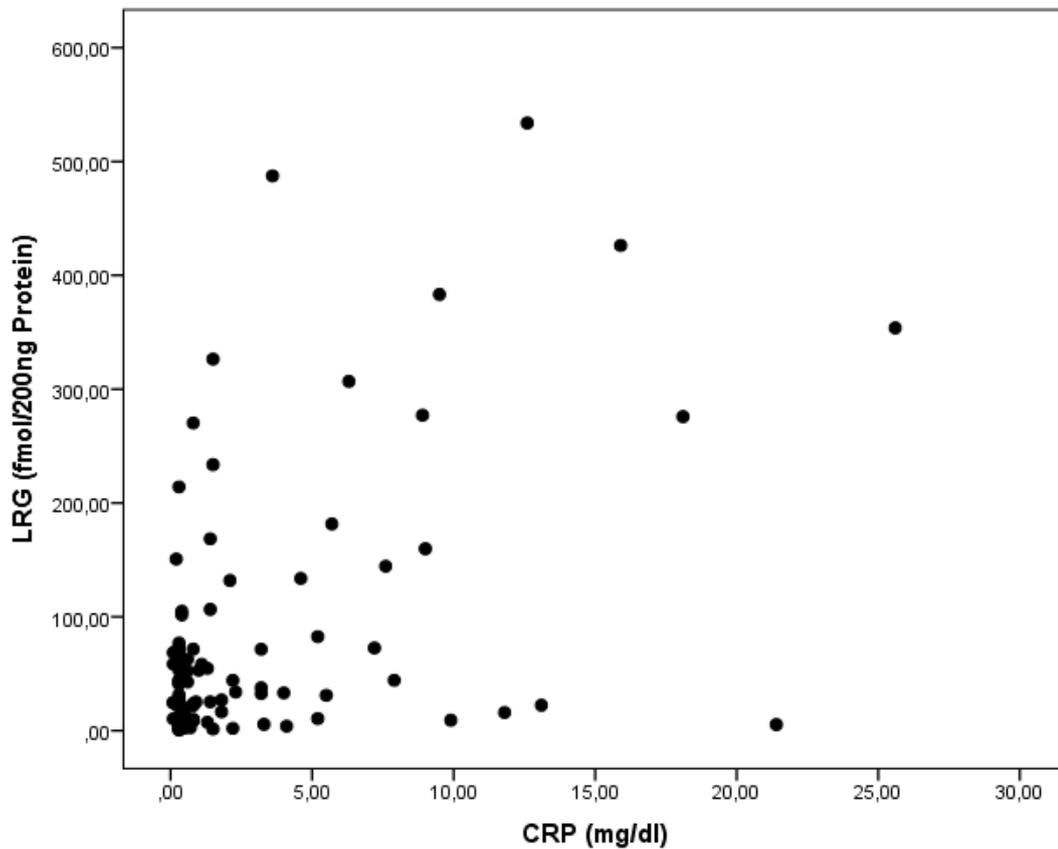


Abb. 11: Geringe Korrelation zwischen der Höhe von CRP und LRG

Das oben stehende Streudiagramm zeigt geringe Anzeichen für einen linearen Zusammenhang zwischen der Höhe des CRP in mg/dl und der Höhe des LRG im Urin in fmol/200ng Gesamtprotein. Rechnerisch zeigte sich in der Spearman's Rho Korrelation eine geringe Korrelation bei einem Rangkorrelationskoeffizienten r_s von 0.345 ($p < 0,01$).

Abkürzungen: LRG (leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein), CRP=C-reaktives Protein, fmol=femtomol, ng=nanogramm, mg=milligramm, dl=deziliter

3.4 Sensitivität und Spezifität von LRG im Urin, CRP im Serum bzw. Leukozytenzahl bei Vorliegen einer akuten Appendizitis

In der Auswertung einer *Receiver Operating Characteristics* (ROC) Kurve (Abb. 12) mit der Zustandsvariable „Vorliegen einer akuten Appendizitis“ (n=14) und der Testvariable „Höhe von LRG im Urin, CRP im Serum und Leukozytenzahl im Blutbild“ zeigte sich, dass Sensitivität und Spezifität der Leukozytenzahl bei 92,9% und 75,5% liegen, bei einem Grenzwert von 10450 Leukozyten/ μ l. Die *Area under the curve* (AUC) lag für die Leukozytenzahl bei 0.862 und zeigte damit, dass sie eine gute Diskriminierungsfähigkeit bei akuter Appendizitis aufweist.

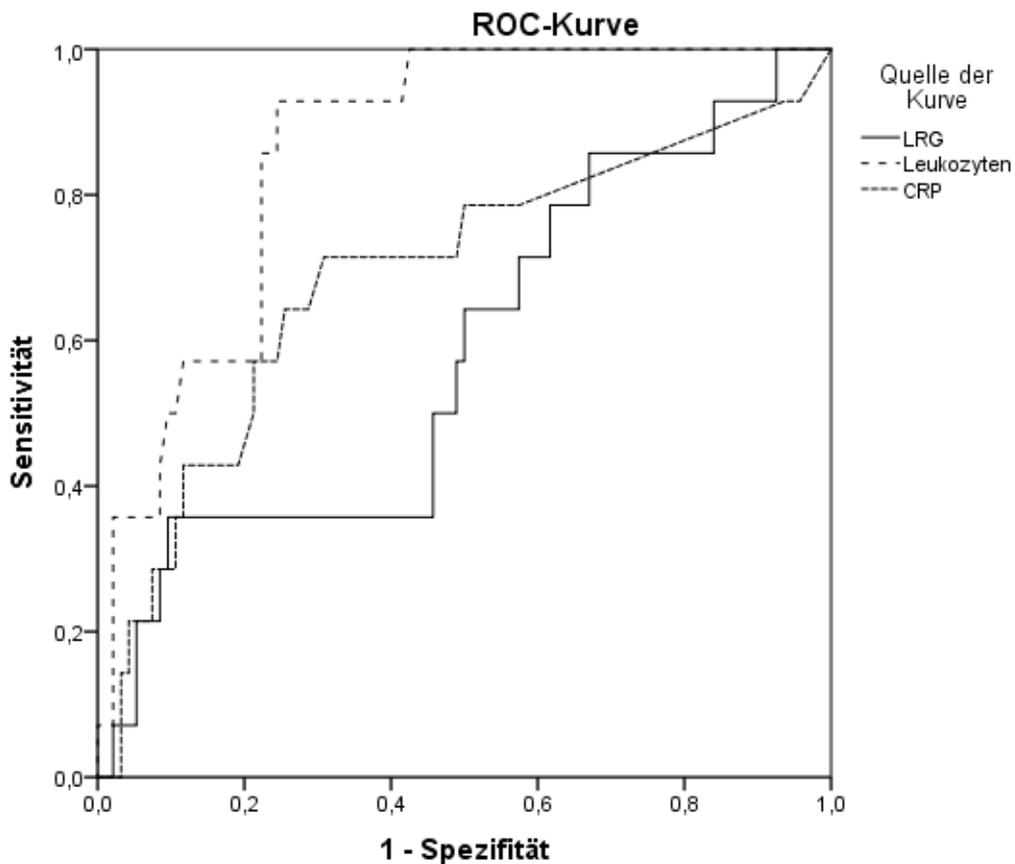
CRP im Serum zeigte bei einem Grenzwert von 1,35 mg/dl eine Sensitivität von 71,4% und eine Spezifität von 69,1% für die akute Appendizitis. Die AUC für CRP betrug 0.689.

Eine LRG Erhöhung hatte bei einem Grenzwert von 14,8 fmol/200ng Protein eine Sensitivität von 78,6% und eine Spezifität von 61,7% bei akuter Appendizitis. Die AUC betrug 0,583.

Bei der Gruppe der entzündlichen Erkrankungen akute Appendizitis, Sigmadivertikulitis und Cholezystitis ergab sich für LRG eine AUC von 0,697 bei einer Sensitivität von 76% und einer Spezifität von 55,4% bei einem Grenzwert von 26,11fmol/200ng Protein. Die AUC der Leukozytenzahl lag bei 0,801 und die AUC der Serum CRP Konzentration bei 0,708 (Abb. 13).

Die Grenzwerte wurden jeweils mithilfe des Youden Index bestimmt.

Somit scheinen sowohl CRP im Serum, als auch LRG im Urin im Gegensatz zur Leukozytenzahl nicht zur Diagnosesicherung einer akuten Appendizitis oder zur Zuordnung zur Gruppe der entzündlichen Erkrankungen (akute Appendizitis, Sigmadivertikulitis oder Cholezystitis) geeignet zu sein.

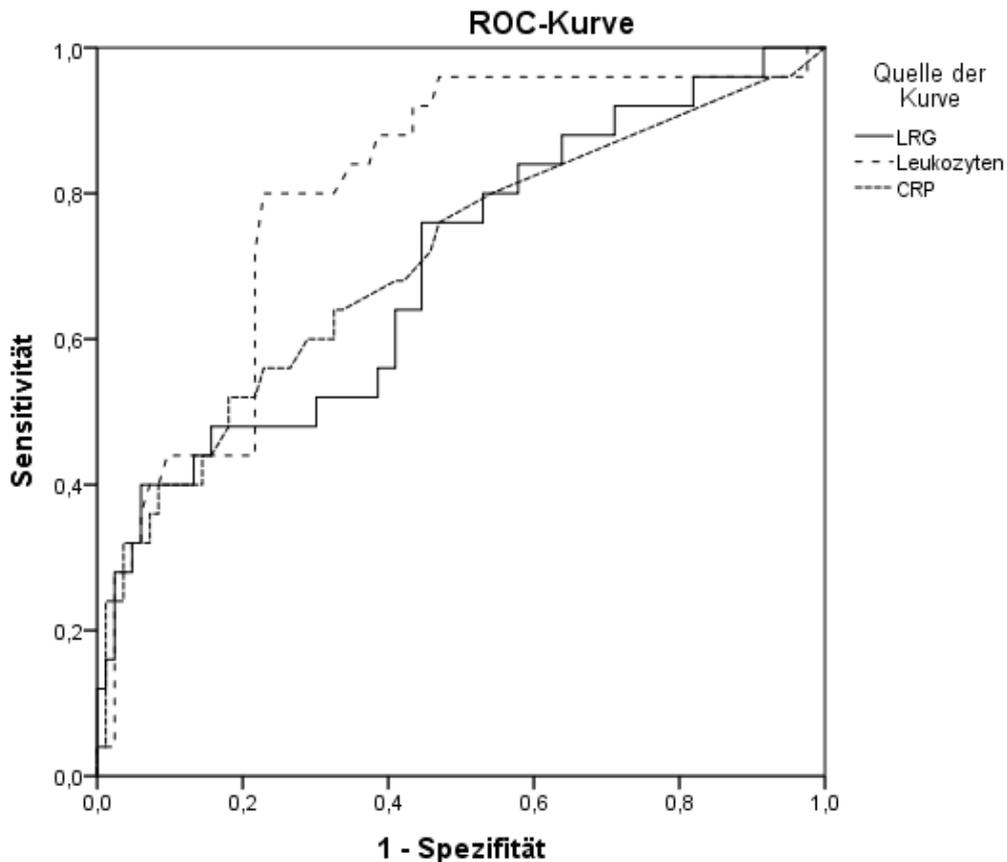


Diagonale Segmente ergeben sich aus Bindungen.

Abb. 12: Receiver operating characteristics (ROC) Kurve zu Leukozytenzahl, CRP im Serum und LRG im Urin bei Vorliegen einer akuten Appendizitis

Die Abbildung zeigt eine *Receiver Operating Characteristics* (ROC) Kurve für das Vorliegen einer akuten Appendizitis und den Testvariablen LRG im Urin in fmol/200ng Protein (durchgezogene Linie), CRP in mg/dl im Serum (fein gestrichelte Linie) und Leukozytenzahl pro μ l im Blutbild (grob gestrichelte Linie). LRG war als Biomarker weder sensitiv noch spezifisch für das Vorliegen einer akuten Appendizitis mit einer *Area under the curve* (AUC) von 0,573. Die AUC der Leukozytenzahl lag bei 0,862, die AUC des Serum CRP bei 0,689.

Abkürzungen: LRG=*leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*, fmol=femtomol, ng=nanogramm, CRP=C-reaktives Protein, mg=milligramm, dl=deziliter, μ l=mikroliter



Diagonale Segmente ergeben sich aus Bindungen.

Abb. 13 Receiver operating characteristics (ROC) Kurve zu Leukozytenzahl, CRP im Serum und LRG im Urin bei Vorliegen einer akuten Appendizitis, Sigmadivertikulitis oder Cholezystitis

Die Abbildung zeigt eine *Receiver Operating Characteristics* (ROC) Kurve für das Vorliegen einer akuten Appendizitis, Sigmadivertikulitis oder Cholezystitis und den Testvariablen LRG im Urin in fmol/200ng Protein (durchgezogene Linie), CRP in mg/dl im Serum (fein gestrichelte Linie) und Leukozytenzahl pro μl im Blutbild (grob gestrichelte Linie). Für LRG ergab sich eine AUC von 0,697 bei einer Sensitivität von 76% und einer Spezifität von 55,4% bei einem Grenzwert von 26,11fmol/200ng Protein. Die AUC der Leukozytenzahl lag bei 0,801 und die AUC der Serum CRP Konzentration bei 0,708.

Abkürzungen: LRG=*leucine-rich 3.1-S- α 2-glycoprotein*, fmol=femtogramm, ng=nanogramm, CRP=C-reaktives Protein, mg=milligramm, dl=deziliter, μl =mikroliter

4. Diskussion

4.1 Eignet sich LRG im Urin als diagnostischer Biomarker bei akuter Appendizitis?

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob die Bestimmung von LRG im Urin erwachsener Probanden zur Sicherung der Diagnose einer akuten Appendizitis beitragen kann.

Es zeigte sich, dass LRG im Urin erwachsener Patienten bei akuter Appendizitis nicht signifikant höher war, als bei Patienten mit anderen Ursachen abdomineller Schmerzen (T Test für unabhängige Stichproben, $p=0,202$). Erwartungsgemäß zeigte sich somit auch kein signifikanter Unterschied im Vergleich der Höhe von LRG im Urin bei akuter Appendizitis mit einzelnen anderen in dieser Studie beobachteten Krankheitsbildern. In der Zusammenfassung der systemisch entzündlichen Erkrankungen akute Appendizitis, Sigmadivertikulitis und Cholezystitis ist LRG im Urin jedoch im Vergleich zu den sonstigen Diagnosen signifikant erhöht (T Test für unabhängige Stichproben, $p=0,001$).

In der Auswertung dieser Studie zeigte sich ein signifikant erhöhter CRP Wert im Serum bei akuter Appendizitis im Vergleich zu allen anderen Diagnosen (Mann Whitney U Test, $p=0,020$).

Interessant ist, dass die Höhe von LRG nur gering mit der Höhe des CRP korreliert. Dies ist durch die gemeinsame physiologische Funktion der beiden Proteine als Akute Phase Proteine Typ 1 so zunächst nicht zu erwarten gewesen. In der Literaturrecherche zeigte sich jedoch, dass LRG bei einer Vielzahl von Erkrankungen eine Bedeutung zu haben scheint, bei denen CRP nicht als spezifischer Marker verwendet werden kann. So zeigte sich beispielsweise in einer Studie von Fujimoto et al., dass LRG im Serum bei Rheumatoider Arthritis besser als CRP im Serum zwischen einer aktiven und nicht aktiven Form unterscheiden kann. In tierexperimentellen Versuchen zeigte sich eine Korrelation von LRG im Serum mit der Krankheitsaktivität, wohingegen CRP im Serum niedrig war (Fujimoto et al. 2015).

In einer Studie zur Analyse von LRG im Urin als Biomarker bei akuter Appendizitis wurde 2012 von Kentsis et al. veröffentlicht, dass die ROC AUC 0,98 bei akuter Appendizitis im Kindesalter beträgt. Die AUC für CRP im Serum lag in dieser Studie bei 0,76 (n=49) (Kentsis et al. 2012).

Fraglich blieb, ob diese Ergebnisse auf erwachsene Patienten übertragen werden können. Im Jahr 2017 wurde eine Studie veröffentlicht, die die Bedeutung von LRG bei akuter Appendizitis im Erwachsenenalter in Blutuntersuchungen analysiert hat. 84 Patienten wurden in die Studie eingeschlossen, davon hatten 40 Patienten eine akute Appendizitis. Es wurde mRNA von LRG im Vollblut mittels qPCR und Plasma LRG mittels ELISA untersucht. Beide waren bei akuter Appendizitis signifikant erhöht. Die Kombination beider Werte mit dem Alvarado Score ergab eine AUC von 0,845. Dies ist der alleinigen Anwendung des Alvarado Scores (AUC 0,805) jedoch nur leicht überlegen (Rainer et al. 2017). Mittels ELISA gemessene Serum-LRG Werte von Frauen mit Schmerzen im rechten Unterbauch zeigten in einer Studie mit 160 Probandinnen keinen Benefit in der Diagnostik einer akuten Appendizitis (Demirci et al. 2017).

Eine Untersuchung zur Bedeutung von LRG im Urin von Erwachsenen lag bisher noch nicht vor. Fraglich bleibt aktuell weiterhin, welche Untersuchungsmethode und -materialien überlegen sind.

Aktuell bleibt anhand der in dieser Studie vorliegenden Daten festzuhalten, dass LRG im Urin kein geeigneter Biomarker zur Diagnosestellung einer akuten Appendizitis im Erwachsenenalter zu sein scheint.

Vielmehr wurde durch diese Untersuchung die Bedeutung der Leukozytenzahl als Biomarker bei akuter Appendizitis hervorgehoben. Die AUC lag bei 0,862 und zeigte damit, dass die Leukozytenzahl gut zwischen dem positiven oder negativen Vorliegen einer akuten Appendizitis differenzieren kann und somit eine Hilfestellung im klinischen Entscheidungsprozess für oder gegen eine Appendektomie ist.

Bei pädiatrischen Patienten scheint die Leukozytenzahl ebenfalls der Messung von LRG hinsichtlich der Spezifität bei Appendizitis überlegen zu sein. Zwar ist LRG in einer Studie von Kharbanda et al. in Blut und Urin von Kindern bei akuter Appendizitis signifikant erhöht, jedoch sind die Sensitivität und Spezifität der Leukozytenzahl höher als bei LRG (Kharbanda et al. 2012).

In der Zusammenschau der aktuellen Studienlage bleiben vor allem die sorgfältige Anamnese und klinische Untersuchung durch einen erfahrenen Viszeralchirurgen und die Bestimmung der Leukozytenzahl als Voraussetzung zur Bestimmung des Alvarado Scores die wichtigsten diagnostischen Mittel. Ergänzend kann eine sonographische Untersuchung hilfreich sein, sie ist als alleiniges diagnostisches Mittel jedoch unzureichend (Karimi et al. 2017). Auch eine Computertomographie des Abdomens kann durchgeführt werden, die möglicherweise die Rate an negativen Appendektomien senken kann, jedoch eine Strahlenbelastung für die Patienten bedeutet und daher einer strengen Indikationsstellung bedarf (Kaiser et al. 2002).

All diese diagnostischen Maßnahmen dienen der Indikationsstellung zur Appendektomie. Die Diagnose einer akuten Appendizitis wird bis auf Weiteres erst intraoperativ zu sichern sein. Daher sollte es Inhalt weiterer Forschung sein, die Diagnose präoperativ mit größtmöglicher Sicherheit stellen zu können. Ein spezifischer Biomarker wäre für die Patienten besonders schonend im Vergleich zu strahlenbelastenden bildgebenden Verfahren.

4.2 Die Leukozytenzahl - ein bedeutsamer Biomarker bei akuter Appendizitis

Unsere Studie konnte die Daten vieler weiterer Studien bezüglich der Relevanz der Leukozytenzahl zur Diagnosestellung einer akuten Appendizitis bestätigen. Es zeigte sich eine signifikant höhere Leukozytenzahl bei Patienten mit akuter Appendizitis im Vergleich zum restlichen Studienkollektiv (T Test für unabhängige Stichproben $p < 0,001$). In der einfaktoriellen ANOVA und dem Tukey post-hoc Test konnten signifikante Unterschiede der mittleren Leukozytenzahl zwischen der akuten Appendizitis und den Gruppen unspezifische Bauchschmerzen, Harnwegsinfekt, Gastritis, Gastroenteritis und V.a. Malignom dargestellt werden.

Eine Differenzierung der Sigmadivertikulitis und der akuten Appendizitis ist anhand der Leukozytenzahl nicht möglich, da es sich bei diesen Erkrankungen gleichermaßen um akute inflammatorische Prozesse des Darmtraktes mit möglicher Peritonitis handelt.

Die Auswertung der ROC Kurve konnte in dieser Studie für die Leukozyten eine besonders gute Diskriminierungsfähigkeit hinsichtlich des Vorliegens einer akuten Appendizitis aufzeigen bei einer AUC von 0,862. Bei einem Grenzwert von 10450/ μ l war die Sensitivität mit 92,9% besonders hoch. Die Spezifität lag bei 75,5%.

Die Leukozytenzahl war bei Vorliegen einer akuten Appendizitis mit Peritonitiszeichen in der histopathologischen Untersuchung etwas höher (n=11, Mittelwert: 15467/ μ l) als bei fehlenden Peritonitiszeichen (n=3, Mittelwert: 13467/ μ l).

Die Ergebnisse zu Sensitivität und Spezifität der Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis scheinen im Vergleich mit anderen Studien eher hoch zu liegen. Die Sensitivität wird in einer Studie von Sevinc et al. mit 71,2% und die Spezifität mit 67,2% bei einem oberen Grenzwert von 11900 Leukozyten/ μ l angegeben. Die Leukozytenzahl war jedoch beim Vorliegen einer perforierten Appendizitis im Vergleich zu einer unkomplizierten Appendizitis nicht signifikant erhöht und scheint somit nicht zwischen den Schweregraden differenzieren zu können (Sevinç et al. 2016). Eine andere Studie von Bealer et al. gibt die Sensitivität und Spezifität der Leukozytenzahl als Biomarker bei akuter Appendizitis mit 63% und 67% bei einem oberen Grenzwert von 10000 Leukozyten/ μ l an (Bealer und Colgin 2010).

Bei Kindern ist die Leukozytenzahl hinsichtlich Sensitivität und Spezifität der aktuell beste bekannte Biomarker mit einer AUC von 0,82 (Kharbanda et al. 2012).

Somit ist die Leukozytenzahl bei Erwachsenen zwar bisher der sensitivste Laborparameter für die akute Appendizitis, die Spezifität ist allerdings nicht ausreichend hoch, um allein aufgrund der Leukozytenzahl Therapieentscheidungen treffen zu können.

4.3 Geringe Korrelation von LRG und CRP

Graphisch und rechnerisch zeigte sich in den in dieser Studie erhobenen Daten nur eine geringe Korrelation von LRG im Urin und CRP im Serum (Rangkorrelationskoeffizient r_s 0.345, $p < 0,01$).

Beide Proteine gehören zur Gruppe der Akute Phase Proteine Typ 1 und werden in der Leber produziert.

In einer Studie von Weivoda et al. zeigte sich bei 51 Patienten mit nachgewiesener Arthritis, HIV Infektion oder *Toxic Shock Syndrome* (TSS) keine Korrelation von CRP und LRG in Messungen im Serum. Daher wurde vermutet, dass trotz Zugehörigkeit beider Proteine zur Gruppe der Akute Phase Proteine unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen und Bedeutungen vorliegen könnten (Weivoda et al. 2008).

Diesbezüglich sollten sich zukünftige Studien mit weiteren Untersuchungen zur pathophysiologischen Funktion von LRG anschließen.

4.4 Vergleich von Kinder- und Erwachsenenproben

Bei Kindern zeigte sich in einer Studie mit 49 Patienten, dass LRG im Urin eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität für die akute Appendizitis hat. Die AUC der ROC Kurve war 0,98. Der Schweregrad der Appendizitis korrelierte mit der Höhe des LRG im Urin (Kentsis et al. 2012).

Während sich in einer ELISA-basierten Untersuchung von LRG im Urin Interferenzen zeigten, konnten mittels Massenspektrometrie verlässliche Ergebnisse erzielt werden (Kentsis et al. 2012).

Auch in unserer Arbeitsgruppe wurde der Urin von Kindern (n=231) hinsichtlich der Urinkonzentration von LRG bei akuter Appendizitis (n=65) untersucht. Die Daten wurden im Rahmen einer weiteren Dissertation der Klinik ausgewertet. In jener Arbeit zeigte sich eine deutliche Überlegenheit von LRG als diagnostischem Parameter bei akuter Appendizitis gegenüber den Laborparametern Leukozyten und CRP. Die AUC der ROC Kurve lag bei 0,803 für LRG als Biomarker bei akuter Appendizitis. Die AUC für CRP lag bei 0,766 und für Leukozyten bei 0,724.

In der vorliegenden Studie zeigte sich im Gegensatz zu den Erkenntnissen der oben genannten pädiatrischen Studien von Kentsis et al. und der Auswertung des eigenen pädiatrischen Patientengutes der Klinik, dass LRG als Biomarker im Urin erwachsener Probanden mit einer AUC von 0,583 weder sensitiv noch spezifisch für das Vorliegen einer akuten Appendizitis ist. Außerdem zeigte sich

kein Hinweis auf eine Korrelation zwischen der Höhe von LRG im Urin und dem histologischen Schweregrad der Appendizitis, wobei dies bei der geringen Fallzahl von 14 Appendizitiden ein eingeschränkt verwertbares Ergebnis ist.

Auch bei pädiatrischen Patienten wird routinemäßig die Leukozytenzahl bestimmt. Hier zeigt sich mit ansteigendem Alter eine deutliche Zunahme der diagnostischen Bedeutung der Leukozytenzahl. In einer Studie von Bachur et al. aus dem Jahr 2016 betrug die AUC für die Leukozytenzahl bei akuter Appendizitis bei Kindern unter 5 Jahren 0,69. Bei Kindern zwischen 12 und 18 Jahren war die diagnostische Aussagekraft der Leukozytenzahl mit einer AUC von 0,83 deutlich höher (Bachur et al. 2016). Somit ist die Evaluation neuerer Biomarker insbesondere für die Diagnostik der akuten Appendizitis bei jüngeren Kindern von Interesse.

Bei Kindern scheint LRG im Urin, ergänzend zu weiterer klinischer und laborchemischer Diagnostik, ein gut anwendbarer Biomarker mit ausreichender Spezifität und Sensitivität für die akute Appendizitis zu sein. Bei Erwachsenen lässt sich diese Beobachtung anhand unserer Daten nicht bestätigen.

Auch die Studie von Kharbanda et al. zu LRG in Blutproben bei akuter Appendizitis weist darauf hin, dass eine Erhöhung der LRG Konzentration bei Erwachsenen zwar vorhanden ist, jedoch nicht im gleichen Maße wie bei Kindern beschrieben werden kann (Kharbanda et al. 2012).

4.5 Die klinische Bedeutung von LRG und Ausblick

Aus aktueller Sicht ist die klinische Nutzung von LRG im Urin bei Erwachsenen bei akuter Appendizitis mangels hinreichender klinischer Signifikanz nicht sinnvoll.

Für die Verwendung von LRG im Urin bei Kindern gibt es Beobachtungen, die auf einen möglichen klinischen Nutzen schließen lassen (Kentsis et al. 2012). Die Höhe von Serum-LRG bei akuter Appendizitis scheint bei Kindern ebenfalls eine statistisch signifikante Bedeutung zu haben, wobei die Leukozytenzahl als Biomarker weiterhin überlegen ist (Kharbanda et al. 2012).

Hier sollten weitere Studien zur klinischen Evaluation, gegebenenfalls in Kombination mit Scoring-Systemen oder bildgebenden Verfahren durchgeführt

werden. Weitere Untersuchungen zur pathophysiologischen Bedeutung von LRG und klinische Studien mit größerem Stichprobenumfang sind erforderlich. In der vorliegenden Studie wurde LRG im Urin bestimmt. Grundsätzlich ist die Untersuchung eines Laborparameters über den Urin für die Patienten vorteilhaft. Dies gilt vor allem für pädiatrische Patienten. Die Gewinnung von Urin erfolgt in der Regel nichtinvasiv und ist schmerzfrei. Auch im ambulanten Bereich könnte eine Bestimmung über den Urin von Nutzen sein. Die laborchemische Untersuchung von LRG im Urin müsste, um sie klinisch nutzbar machen zu können, aus finanziellen und zeitlichen Gründen mit anderen Methoden als der hier verwendeten Massenspektrometrie erfolgen.

In neueren Studien wird über eine erfolgreiche Anwendung eines ELISA für LRG im Serum berichtet (Fujimoto et al. 2015; Shinzaki et al. 2017). Dies könnte die Durchführung klinischer Studien zur Bedeutung von LRG bei malignen Erkrankungen erheblich vereinfachen und somit die klinische Forschung hierzu weiter voranbringen.

Wie in der Einleitung beschrieben, zeigte sich LRG bei verschiedenen malignen Erkrankungen, darunter dem Hepatozellulärem Karzinom (HCC) und dem Ovarialkarzinom deutlich erhöht (Chaerkady et al. 2008; Smith et al. 2014). In experimentellen Studien hat sich gezeigt, dass LRG Cytochrom c inhibieren kann und somit die Apoptose verhindern kann (Cummings et al. 2006; Codina et al. 2010; Shirai et al. 2009). Intrazelluläre Signale, wie zum Beispiel Schäden der DNA, können die Apoptose auslösen, indem Cytochrom c als wichtigster Mediator der Apoptose aus Mitochondrien freigesetzt wird. Kommt es zu einer Hemmung der Apoptose, kann dies zur Tumorbildung beitragen. Bei einigen neurodegenerativen Erkrankungen kommt es zu einer übermäßigen Apoptose (Rassow et al. 2016).

Ein besseres Verständnis der Signalkaskade zur Ausschüttung von LRG könnte in Zukunft möglicherweise sogar neue Ansätze in der Therapie maligner Erkrankungen oder neurodegenerativer Erkrankungen erbringen.

4.6 Limitationen der Studie und Methodenkritik

Zur Beurteilung der Daten ist es von großer Bedeutung, ob die Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, repräsentativ hinsichtlich Alter, Geschlecht und Diagnosenverteilung sind. So wären sie mit einem größeren Patientenkollektiv vergleichbar und es könnten unter Umständen Schlüsse für die Allgemeinheit gezogen werden.

In einer prospektiven Studie aus Finnland, in die 639 Patienten aufgenommen worden waren, die sich mit abdominellen Schmerzen in der Notfallambulanz vorgestellt hatten, waren die Hauptursachen für abdominelle Schmerzen unspezifische abdominelle Schmerzen (33%), akute Appendizitis (23,3%) und eine akute biliäre Erkrankung (z.B. Cholezystitis) (8,8%) (Miettinen et al. 1996). In unserer Studie waren die drei häufigsten Diagnosen der unspezifische Bauchschmerz (32,1%), die Harnwegsinfektion (18,3%) und die akute Appendizitis (13,8%). Möglicherweise unterscheidet sich die Häufigkeit der Diagnose Harnwegsinfektion dadurch, dass zwar grundsätzlich alle Patienten mit Bauchschmerzen in die Studie aufgenommen werden durften, jedoch den beteiligten Ärzten und dem Pflegepersonal bewusst war, dass insbesondere die Höhe des LRG bei akuter Appendizitis beurteilt werden sollte. Es ist denkbar, dass dadurch mehr Patienten mit der Lokalisation von Schmerzen im Unterbauch zur Studienteilnahme aufgeklärt wurden. Der höhere Prozentanteil der Patienten mit Harnwegsinfektion könnte so erklärbar sein. In der vorliegenden Studie konnten keine Patienten mit Ileus oder akuter Pankreatitis eingeschlossen werden, so dass diese wichtigen Differentialdiagnosen eines akuten Abdomens in der Auswertung nicht erfasst werden konnten. Auffallend ist das hohe Durchschnittsalter von 40,6 Jahren in der Gruppe der Patienten mit akuter Appendizitis. Laut Lehrbuch erkranken Männer am häufigsten im Alter von 10-14 Jahren, Frauen im Alter von 15-19 Jahren (Allgöwer 2006). Die Differenz ist zum Teil dadurch erklärbar, dass laut der Studienkriterien nur Patienten über 18 Jahren in die Studie aufgenommen werden durften. Hier zeigt sich dennoch, dass das Patientenkollektiv dieser Studie eine deutlich abweichende Altersverteilung der Patienten mit akuter Appendizitis aufweist, als die Allgemeinbevölkerung.

Den Probanden wurden Hand-outs vorgelegt, in denen weitere Angaben zur Anamnese gemacht werden konnten (siehe Anhang). Diese wurden meist nicht oder nur unvollständig ausgefüllt, so dass diesbezüglich keine Auswertung erfolgen konnte. Möglicherweise hätte hierbei ein besseres Design des Hand-out Bogens die Compliance verbessern können, so dass weitere Aussagen hinsichtlich Appendizitis Scores etc. hätten getroffen werden können. Die Patienten wurden im Verlauf angerufen, um zu ermitteln, ob sie in einem anderen Krankenhaus an einer Appendizitis operiert worden sind. Hierbei wurden nur 40 Patienten erreicht, die diese Frage alle mit nein beantworteten.

Es besteht eine verhältnismäßig niedrige Fallzahl sowohl an akuter Appendizitis (n=14), aber auch des gesamten Studienkollektivs (n=109). Dies ist vor allem durch die hohen Kosten der klinischen Beobachtungsstudie zu erklären, da die Proben mittels Massenspektrometrie ausgewertet werden mussten. Somit zeigt sich kein signifikanter Unterschied im Mittelwert zwischen LRG im Urin bei akuter Appendizitis und den sonstigen Diagnosen. Bei einer größeren Studienpopulation wäre hier womöglich eine statistische Signifikanz erreicht worden.

Die klinische Signifikanz von LRG bliebe jedoch weiterhin fraglich, wenn eine sehr große Studienpopulation benötigt würde, um einen statistisch signifikanten Unterschied zu zeigen. Unsere Beobachtungen hinsichtlich der Leukozytenzahl zeigen, dass die vorliegende Studie eine ausreichende Patientenzahl hatte, um klinisch relevante Beobachtungen statistisch signifikant abbilden zu können. Ein klinisch bedeutsamer Laborparameter zur Diagnosestellung einer Erkrankung sollte nach Möglichkeit, wie es sich etwa auch in unseren Daten und anderen Studien (Bealer und Colgin 2010; Sevinç et al. 2016) bei der Leukozytose zeigt, bereits bei geringer Fallzahl eine signifikante Differenz zeigen, um den klinisch tätigen Arzt bei der Diagnosestellung und Indikationsstellung zu unterstützen. Dies ist bei LRG im Urin nicht gegeben, so dass dieser Parameter klinisch keinen diagnostischen Mehrwert zur sicheren Differenzierung einer akuten Appendizitis bei Erwachsenen im Vergleich zu anderen Differentialdiagnosen bietet. Möglicherweise bietet die Bestimmung von LRG im Serum hier Vorteile (Rainer et al. 2017).

Eine weitere Limitation des Laborparameters LRG und damit auch dieser Studie besteht in der bislang noch sehr aufwendigen und kostenintensiven

Bestimmung des Wertes durch Massenspektrometrie. Diese Methode müsste für die Routineanalytik weiterentwickelt werden, um ein zügiges Ergebnis im klinischen Alltag insbesondere in der Notfallsituation wie etwa bei akuter Appendizitis zu bieten. Alternativ wäre ein verbessertes Testverfahren wie etwa der bereits angesprochene ELISA oder ein Schnelltest wünschenswert, um LRG als klinischen Routineparameter mit zügiger und ökonomischer Bestimmung zu etablieren. Die Menge von LRG im Urin ist abhängig von der Flüssigkeitsaufnahme des Patienten, so dass eine Mengenangabe in Bezug auf die Gesamtmenge an Protein im Urin erforderlich ist, wie es auch in der vorliegenden Arbeit erfolgt ist.

4.7 Schlussfolgerung

In dieser Studie zeigt sich kein Anhalt dafür, dass LRG im Urin von Erwachsenen die Diagnosesicherheit bei akuter Appendizitis bedeutend verbessern kann.

Die LRG Menge im Urin ist zwar bei akuter Appendizitis im Vergleich zu anderen Erkrankungen erhöht, dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant. LRG ist weder sensitiv noch spezifisch für das Vorliegen einer akuten Appendizitis und ist somit für den Arzt im klinischen Alltag hinsichtlich dieser Fragestellung nicht von Bedeutung.

Die erhobenen Daten zeigen, wie auch schon aus anderen Publikationen bekannt, dass es bei der akuten Appendizitis im Vergleich zu anderen Diagnosen zu einer statistisch signifikanten Leukozytose kommt. Somit scheint die Leukozytose weiterhin der aktuell wichtigste Laborparameter für die Diagnosestellung einer akuten Appendizitis zu sein. Zusammen mit dem klinischen Bild und gegebenenfalls bildgebenden Verfahren obliegt es dem klinisch tätigen Arzt die Verdachtsdiagnose einer akuten Appendizitis und somit die Operationsindikation zu stellen.

Anders ist die Datenlage jedoch bei pädiatrischen Patienten. LRG im Urin könnte aufgrund seiner höheren Sensitivität und Spezifität für die akute Appendizitis im Kindesalter einen diagnostischen Stellenwert besitzen, auch

weil die Leukozytose, insbesondere bei Kleinkindern, eine geringere Bedeutung zu haben scheint (Bachur et al. 2016; Kentsis et al. 2012).

Sowohl für erwachsene Patienten als auch für pädiatrische Patienten sind weitere klinische Studien erforderlich, um die Bedeutung von LRG besser einschätzen zu können. Insbesondere ist auch in weiteren klinischen Studien herauszuarbeiten, welche Bestimmungsmethode und welches Analysematerial für LRG am besten geeignet sind. Die Bestimmung sollte zeitsparender und weniger kostenintensiv als die bisher in Studien verwendete Massenspektrometrie sein. Weitere Grundlagenforschung ist wichtig, um den Pathomechanismus besser zu verstehen. Die Bedeutung von LRG für die Apoptose und damit die klinische Bedeutung bei malignen und neurodegenerativen Erkrankungen sollte Ziel weiterer Forschung sein. Auch stellt sich die Frage, ob CRP und LRG als Akute Phase Proteine unterschiedlichen Pathomechanismen unterliegen, somit klinisch unterschiedliche Bedeutung haben und dadurch auch unterschiedliche Aussagekraft hinsichtlich verschiedener Erkrankungen haben könnten.

5. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Addiss, D. G.; Shaffer, N.; Fowler, B. S.; Tauxe, R. V. (1990): The epidemiology of appendicitis and appendectomy in the United States. In: *American journal of epidemiology* 132 (5), S. 910–925.
- Al-Abed, Yahya A.; Alobaid, Nasser; Myint, Fiona (2015): Diagnostic markers in acute appendicitis. In: *American journal of surgery* 209 (6), S. 1043–1047. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2014.05.024.
- Allgöwer, Martin (2006): Chirurgie. Mit integriertem Fallquiz ; 40 Fälle nach neuer AO ; mit 182 Tabellen. 8., komplett überarb. Aufl. Hg. v. Jörg R. Siewert. Berlin [u.a.]: Springer-Medizin-Verl. (SpringerLink: Springer e-Books).
- Allister, Lauren; Bachur, Richard; Glickman, Jonathan; Horwitz, Bruce (2011): Serum markers in acute appendicitis. In: *The Journal of surgical research* 168 (1), S. 70–75. DOI: 10.1016/j.jss.2009.10.029.
- Alvarado, A. (1986): A practical score for the early diagnosis of acute appendicitis. In: *Annals of emergency medicine* 15 (5), S. 557–564.
- Andersen, John D.; Boylan, Kristin Lm; Jemmerson, Ronald; Geller, Melissa A.; Misemer, Benjamin; Harrington, Katherine M. et al. (2010): Leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 is upregulated in sera and tumors of ovarian cancer patients. In: *Journal of ovarian research* 3, S. 21. DOI: 10.1186/1757-2215-3-21.
- Andersson, Manne; Rubér, Marie; Ekerfelt, Christina; Hallgren, Hanna Björnsson; Olaison, Gunnar; Andersson, Roland E. (2014): Can new inflammatory markers improve the diagnosis of acute appendicitis? In: *World journal of surgery* 38 (11), S. 2777–2783. DOI: 10.1007/s00268-014-2708-7.
- Bachur, Richard G.; Dayan, Peter S.; Dudley, Nanette C.; Bajaj, Lalit; Stevenson, Michelle D.; Macias, Charles G. et al. (2016): The Influence of Age on the Diagnostic Performance of White Blood Cell Count and Absolute Neutrophil Count in Suspected Pediatric Appendicitis. In: *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 23 (11), S. 1235–1242. DOI: 10.1111/acem.13018.
- Baumann, H.; Gauldie, J. (1994): The acute phase response. In: *Immunology today* 15 (2), S. 74–80. DOI: 10.1016/0167-5699(94)90137-6.
- Bealer, John F.; Colgin, Mark (2010): S100A8/A9. A potential new diagnostic aid for acute appendicitis. In: *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 17 (3), S. 333–336. DOI: 10.1111/j.1553-2712.2010.00663.x.
- Becker, K.; Höfler, H. (2002): Pathologie der Appendizitis. In: *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin* 73 (8), S. 777–781.
- Beltran, Marcelo A.; Mendez, Pedro E.; Barrera, Rodrigo E.; Contreras, Mario A.; Wilson, Christian S.; Cortes, Victor J.; Cruces, Karina S. (2009): Is hyperbilirubinaemia in appendicitis a better predictor of perforation than C-reactive protein? - a prospective study. In: *The Indian journal of surgery* 71 (5), S. 265–272. DOI: 10.1007/s12262-009-0074-8.
- Billmann, Franck; Keck, Tobias (2017): Facharztwissen viszeral- und allgemein Chirurgie. Berlin, [Germany], Heidelberg, [Germany]: Springer.
- Boateng, Joshua; Kay, Richard; Lancashire, Lee; Brown, Pamela; Velloso, Cristiana; Bouloux, Pierre et al. (2009): A proteomic approach combining MS and bioinformatic analysis for the detection and identification of biomarkers of administration of exogenous human growth hormone in humans. In: *Proteomics. Clinical applications* 3 (8), S. 912–922. DOI: 10.1002/prca.200800190.
- Boylan, Kristin Lm; Andersen, John D.; Anderson, Lorraine B.; Higgins, LeeAnn; Skubitz, Amy Pn (2010): Quantitative proteomic analysis by iTRAQ(R) for the identification of candidate biomarkers in ovarian cancer serum. In: *Proteome science* 8, S. 31. DOI: 10.1186/1477-5956-8-31.

- Brenner, D.; Elliston, C.; Hall, E.; Berdon, W. (2001): Estimated risks of radiation-induced fatal cancer from pediatric CT. In: *AJR. American journal of roentgenology* 176 (2), S. 289–296. DOI: 10.2214/ajr.176.2.1760289.
- Chaerkady, Raghothama; Thuluvath, Paul J.; Kim, Min-Sik; Nalli, Anuradha; Vivekanandan, Perumal; Simmers, Jessica et al. (2008): O Labeling for a Quantitative Proteomic Analysis of Glycoproteins in Hepatocellular Carcinoma. In: *Clinical proteomics* 4 (3-4), S. 137–155. DOI: 10.1007/s12014-008-9013-0.
- Charfi, Slim; Sellami, Ahmad; Affes, Abdellatif; Yaïch, Khalil; Mzali, Rafik; Boudawara, Tahya Sellami (2014): Histopathological findings in appendectomy specimens. A study of 24,697 cases. In: *International journal of colorectal disease* 29 (8), S. 1009–1012. DOI: 10.1007/s00384-014-1934-7.
- Chen, Yeng; Azman, Siti Nuraishah; Kerishnan, Jesinda P.; Zain, Rosnah Binti; Chen, Yu Nieng; Wong, Yin-Ling; Gopinath, Subash C. B. (2014): Identification of host-immune response protein candidates in the sera of human oral squamous cell carcinoma patients. In: *PLoS one* 9 (10), e109012. DOI: 10.1371/journal.pone.0109012.
- Cheung, K. J.; Tilleman, K.; Deforce, D.; Colle, I.; van Vlierberghe, H. (2009): The HCV serum proteome. A search for fibrosis protein markers. In: *Journal of viral hepatitis* 16 (6), S. 418–429. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01083.x.
- Choi, Jung-Won; Liu, Hao; Shin, Dong Hoon; Im Yu, Gyeong; Hwang, Jae Seok; Kim, Eun Soo; Yun, Jong Won (2013): Proteomic and cytokine plasma biomarkers for predicting progression from colorectal adenoma to carcinoma in human patients. In: *Proteomics* 13 (15), S. 2361–2374. DOI: 10.1002/pmic.201200550.
- Choi, Seonyoung; Lim, Ji-youn; Kim, Yoonjin; Song, Moon Jung; Jung, Woon-Won; Seo, Jung Bok et al. (2014): Plasma proteomic analysis of patients infected with H1N1 influenza virus. In: *Proteomics* 14 (16), S. 1933–1942. DOI: 10.1002/pmic.201400030.
- Chong, C. F.; Adi, M. I. W.; Thien, A.; Suyoi, A.; Mackie, A. J.; Tin, A. S. et al. (2010): Development of the RIPASA score. A new appendicitis scoring system for the diagnosis of acute appendicitis. In: *Singapore medical journal* 51 (3), S. 220–225.
- Codina, Ramil; Vanasse, Amelia; Kelekar, Ameeta; Vezys, Vaiva; Jemmerson, Ronald (2010): Cytochrome c-induced lymphocyte death from the outside in. Inhibition by serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1. In: *Apoptosis : an international journal on programmed cell death* 15 (2), S. 139–152. DOI: 10.1007/s10495-009-0412-0.
- Collins, D. C. (1931): Historic Phases of Appendicitis. In: *Annals of surgery* 94 (2), S. 179–196.
- Cummings, Chad; Walder, Jennifer; Treeful, Amy; Jemmerson, Ronald (2006): Serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 binds cytochrome c and inhibits antibody detection of this apoptotic marker in enzyme-linked immunosorbent assay. In: *Apoptosis : an international journal on programmed cell death* 11 (7), S. 1121–1129. DOI: 10.1007/s10495-006-8159-3.
- Demirci, Osman Lutfi; Cevik, Yunsur; Corbacioglu, Seref Kerem; Taner, Alpaslan (2017): Value of Leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 (LRG-1) on diagnosis of acute appendicitis in female patients with right lower-quadrant abdominal pain. In: *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association* 67 (9), S. 1383–1386.
- Erdem, Hasan; Çetinküner, Süleyman; Daş, Koray; Reyhan, Enver; Değer, Cumhuri; Aziret, Mehmet et al. (2013): Alvarado, Eskelinen, Ohhmann and Raja Isteri Pengiran Anak Saleha Appendicitis scores for diagnosis of acute appendicitis. In: *World journal of gastroenterology* 19 (47), S. 9057–9062. DOI: 10.3748/wjg.v19.i47.9057.
- Eskelinen, M.; Ikonen, J.; Lipponen, P. (1994): Sex-specific diagnostic scores for acute appendicitis. In: *Scandinavian journal of gastroenterology* 29 (1), S. 59–66.
- Estrada, Joaquin J.; Petrosyan, Mikael; Barnhart, Jordan; Tao, Matthew; Sohn, Helen; Towfigh, Shirin; Mason, Rodney J. (2007): Hyperbilirubinemia in appendicitis. A new predictor of perforation. In: *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 11 (6), S. 714–718. DOI: 10.1007/s11605-007-0156-5.
- Fair, Brett A.; Kubasiak, John C.; Janssen, Imke; Myers, Jonathan A.; Millikan, Keith W.; Deziel, Daniel J.; Luu, Minh B. (2015): The impact of operative timing on outcomes of appendicitis. A

- National Surgical Quality Improvement Project analysis. In: *American journal of surgery* 209 (3), S. 498–502. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2014.10.013.
- Ferrero, Simone; Gillott, David J.; Remorgida, Valentino; Anserini, Paola; Ragni, Nicola; Grudzinskas, Jurgis G. (2009): Increased expression of one isoform of leucine-rich alpha-2-glycoprotein in peritoneal fluid of women with uterine leiomyomas. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 279 (3), S. 365–371. DOI: 10.1007/s00404-008-0741-1.
- Flum, D. R.; Morris, A.; Koepsell, T.; Dellinger, E. P. (2001): Has misdiagnosis of appendicitis decreased over time? A population-based analysis. In: *JAMA* 286 (14), S. 1748–1753.
- Fujimoto, Minoru; Serada, Satoshi; Suzuki, Katsuya; Nishikawa, Ayumi; Ogata, Atsushi; Nanki, Toshihiro et al. (2015): Leucine-rich α 2-glycoprotein as a potential biomarker for joint inflammation during anti-interleukin-6 biologic therapy in rheumatoid arthritis. In: *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)* 67 (8), S. 2056–2060. DOI: 10.1002/art.39164.
- Gallerani, M.; Boari, B.; Anania, G.; Cavallesco, G.; Manfredini, R. (2006): Seasonal variation in onset of acute appendicitis. In: *La Clinica terapeutica* 157 (2), S. 123–127.
- Gazouli, Maria; Anagnostopoulos, Athanasios K.; Papadopoulou, Aggeliki; Vaiopoulou, Anna; Papamichael, Konstantinos; Mantzaris, Gerassimos et al. (2013): Serum protein profile of Crohn's disease treated with infliximab. In: *Journal of Crohn's & colitis* 7 (10), e461-70. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.02.021.
- Gross, Jürgen H. (2013): Massenspektrometrie. Ein Lehrbuch. Berlin [u.a.]: Springer Spektrum.
- Ha, You Jung; Kang, Eun-Jin; Lee, Sang-Won; Lee, Soo-Kon; Park, Yong-Beom; Song, Jung-Soo; Choi, Sang Tae (2014): Usefulness of serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein as a disease activity biomarker in patients with rheumatoid arthritis. In: *Journal of Korean medical science* 29 (9), S. 1199–1204. DOI: 10.3346/jkms.2014.29.9.1199.
- Hansson, Jeanette; Körner, Ulla; Ludwigs, Karin; Johnsson, Erik; Jönsson, Claes; Lundholm, Kent (2012): Antibiotics as first-line therapy for acute appendicitis. Evidence for a change in clinical practice. In: *World journal of surgery* 36 (9), S. 2028–2036. DOI: 10.1007/s00268-012-1641-x.
- Haupt, H.; Baudner, S. (1977): Isolierung und Charakterisierung eines bisher unbekanntes leucinreichen 3.1S-alpha2-Glykoproteins aus Humanserum. In: *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie* 358 (6), S. 639–646.
- Hong, Young Ran; Chung, Chul-Woon; Kim, Jong Woo; Kwon, Chang Il; Ahn, Dae Ho; Kwon, Sung Won; Kim, Seong Ki (2012): Hyperbilirubinemia is a significant indicator for the severity of acute appendicitis. In: *Journal of the Korean Society of Coloproctology* 28 (5), S. 247–252. DOI: 10.3393/jksc.2012.28.5.247.
- Kaiser, Sylvie; Frenckner, Björn; Jorulf, Hakan K. (2002): Suspected appendicitis in children. US and CT—a prospective randomized study. In: *Radiology* 223 (3), S. 633–638. DOI: 10.1148/radiol.2233011076.
- Kakisaka, Tatsuhiro; Kondo, Tadashi; Okano, Tetsuya; Fujii, Kiyonaga; Honda, Kazufumi; Endo, Mitsufumi et al. (2007): Plasma proteomics of pancreatic cancer patients by multi-dimensional liquid chromatography and two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE). Up-regulation of leucine-rich alpha-2-glycoprotein in pancreatic cancer. In: *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 852 (1-2), S. 257–267. DOI: 10.1016/j.jchromb.2007.01.029.
- Kalantari, Shiva; Rutishauser, Dorothea; Samavat, Shiva; Nafar, Mohsen; Mahmudieh, Leyla; Rezaei-Tavirani, Mostafa; Zubarev, Roman A. (2013): Urinary prognostic biomarkers and classification of IgA nephropathy by high resolution mass spectrometry coupled with liquid chromatography. In: *PLoS one* 8 (12), e80830. DOI: 10.1371/journal.pone.0080830.
- Karimi, Ebrahim; Aminianfar, Mohammad; Zarafshani, Keivan; Safaie, Arash (2017): The Accuracy of Emergency Physicians in Ultrasonographic Screening of Acute Appendicitis; a Cross Sectional Study. In: *Emergency (Tehran, Iran)* 5 (1), e22.
- Kawakami, Takayuki; Hoshida, Yujin; Kanai, Fumihiko; Tanaka, Yasuo; Tateishi, Keisuke; Ikenoue, Tsuneo et al. (2005): Proteomic analysis of sera from hepatocellular carcinoma

- patients after radiofrequency ablation treatment. In: *Proteomics* 5 (16), S. 4287–4295. DOI: 10.1002/pmic.200401287.
- Kay, R. G.; Barton, C.; Velloso, C. P.; Brown, P. R.; Bartlett, C.; Blazeovich, A. J. et al. (2009): High-throughput ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry quantitation of insulin-like growth factor-I and leucine-rich alpha-2-glycoprotein in serum as biomarkers of recombinant human growth hormone administration. In: *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* 23 (19), S. 3173–3182. DOI: 10.1002/rcm.4237.
- Kentsis, Alex; Ahmed, Saima; Kurek, Kyle; Brennan, Eileen; Bradwin, Gary; Steen, Hanno; Bachur, Richard (2012): Detection and diagnostic value of urine leucine-rich α -2-glycoprotein in children with suspected acute appendicitis. In: *Annals of emergency medicine* 60 (1), 78-83.e1. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2011.12.015.
- Kentsis, Alex; Lin, Yin Yin; Kurek, Kyle; Calicchio, Monica; Wang, Yan Yan; Monigatti, Flavio et al. (2010): Discovery and validation of urine markers of acute pediatric appendicitis using high-accuracy mass spectrometry. In: *Annals of emergency medicine* 55 (1), 62-70.e4. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2009.04.020.
- Kharbanda, Anupam B.; Rai, Alex J.; Cosme, Yohaimi; Liu, Khin; Dayan, Peter S. (2012): Novel serum and urine markers for pediatric appendicitis. In: *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 19 (1), S. 56–62. DOI: 10.1111/j.1553-2712.2011.01251.x.
- Kirby, Andrew; Hobson, Richard P.; Burke, Dermot; Cleveland, Victoria; Ford, Georgia; West, Robert M. (2015): Appendectomy for suspected uncomplicated appendicitis is associated with fewer complications than conservative antibiotic management. A meta-analysis of post-intervention complications. In: *The Journal of infection* 70 (2), S. 105–110. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.08.009.
- Kobe, B.; Kajava, A. V. (2001): The leucine-rich repeat as a protein recognition motif. In: *Current opinion in structural biology* 11 (6), S. 725–732.
- Koumarelas, Konstantinos; Theodoropoulos, George E.; Spyropoulos, Basileios G.; Bramis, Konstantinos; Manouras, Andreas; Zografos, George (2014): A prospective longitudinal evaluation and affecting factors of health related quality of life after appendectomy. In: *International journal of surgery (London, England)* 12 (8), S. 848–857. DOI: 10.1016/j.ijsu.2014.06.015.
- Ladd, Jon J.; Busald, Tina; Johnson, Melissa M.; Zhang, Qing; Pitteri, Sharon J.; Wang, Hong et al. (2012): Increased plasma levels of the APC-interacting protein MAPRE1, LRG1, and IGFBP2 preceding a diagnosis of colorectal cancer in women. In: *Cancer prevention research (Philadelphia, Pa.)* 5 (4), S. 655–664. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0412.
- Laurell, H.; Hansson, L-E; Gunnarsson, U. (2013): Manifestations of acute appendicitis. A prospective study on acute abdominal pain. In: *Digestive surgery* 30 (3), S. 198–206. DOI: 10.1159/000350043.
- Lee, M.; Paavana, T.; Mazari, F.; Wilson, T. R. (2014): The morbidity of negative appendectomy. In: *Annals of the Royal College of Surgeons of England* 96 (7), S. 517–520. DOI: 10.1308/003588414X13946184903801.
- Lee, S. L.; Walsh, A. J.; Ho, H. S. (2001): Computed tomography and ultrasonography do not improve and may delay the diagnosis and treatment of acute appendicitis. In: *Archives of surgery (Chicago, Ill. : 1960)* 136 (5), S. 556–562.
- Lehmann, D.; Uebel, P.; Weiss, H.; Fiedler, L.; Bersch, W. (2000): Sonographische Darstellbarkeit der normalen und der entzündeten Appendix--bei Patienten mit rechtsseitigen Unterbauchschmerzen. In: *Ultraschall in der Medizin (Stuttgart, Germany : 1980)* 21 (3), S. 101–106. DOI: 10.1055/s-2000-3788.
- Li, Xianfeng; Miyajima, Masakazu; Jiang, Chuanlu; Arai, Hajime (2007): Expression of TGF-betas and TGF-beta type II receptor in cerebrospinal fluid of patients with idiopathic normal pressure hydrocephalus. In: *Neuroscience letters* 413 (2), S. 141–144. DOI: 10.1016/j.neulet.2006.11.039.

- Lin, Biaoyang; White, James T.; Wu, Jian; Lele, Shashikant; Old, Lloyd J.; Hood, Leroy; Odunsi, Kunle (2009): Deep depletion of abundant serum proteins reveals low-abundant proteins as potential biomarkers for human ovarian cancer. In: *Proteomics. Clinical applications* 3 (7), S. 853–861. DOI: 10.1002/prca.200800141.
- Lin, Chao-Po; Chen, Yi-Wen; Liu, Wen-Hsin; Chou, Hsiu-Chuan; Chang, Yi-Ping; Lin, Szu-Ting et al. (2012): Proteomic identification of plasma biomarkers in uterine leiomyoma. In: *Molecular bioSystems* 8 (4), S. 1136–1145. DOI: 10.1039/c2mb05453a.
- Lindén, Mårten; Lind, Sara Bergström; Mayrhofer, Corina; Segersten, Ulrika; Wester, Kenneth; Lyutvinskiy, Yaroslav et al. (2012): Proteomic analysis of urinary biomarker candidates for nonmuscle invasive bladder cancer. In: *Proteomics* 12 (1), S. 135–144. DOI: 10.1002/pmic.201000810.
- Liu, Yansheng; Luo, Xiaoyang; Hu, Haichuan; Wang, Rui; Sun, Yihua; Zeng, Rong; Chen, Haiquan (2012): Integrative proteomics and tissue microarray profiling indicate the association between overexpressed serum proteins and non-small cell lung cancer. In: *PloS one* 7 (12), e51748. DOI: 10.1371/journal.pone.0051748.
- Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie (2014). 9., vollständig überarbeitete Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- Lopez, J. A.; Chung, D. W.; Fujikawa, K.; Hagen, F. S.; Davie, E. W.; Roth, G. J. (1988): The alpha and beta chains of human platelet glycoprotein Ib are both transmembrane proteins containing a leucine-rich amino acid sequence. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (7), S. 2135–2139.
- Lourenco, Pedro; Brown, Jacquie; Leipsic, Jonathan; Hague, Cameron (2016): The current utility of ultrasound in the diagnosis of acute appendicitis. In: *Clinical imaging* 40 (5), S. 944–948. DOI: 10.1016/j.clinimag.2016.03.012.
- Lu, Ye; Liu, Jie; Lin, Chengzhao; Wang, Haijian; Jiang, Ying; Wang, Jiyao et al. (2010): Peroxiredoxin 2. A potential biomarker for early diagnosis of hepatitis B virus related liver fibrosis identified by proteomic analysis of the plasma. In: *BMC gastroenterology* 10, S. 115. DOI: 10.1186/1471-230X-10-115.
- Ma, Hui; Wang, JiangHua; Guo, Fang; Wei, Lai (2011): α -2-HS-glycoprotein is a potential marker predicting hepatitis B e antigen seroconversion in patients with chronic hepatitis B during treatment with pegylated interferon alpha-2b. In: *Science China. Life sciences* 54 (1), S. 39–47. DOI: 10.1007/s11427-010-4111-4.
- Majek, Pavel; Riedelova-Reicheltova, Zuzana; Suttnar, Jiri; Pecankova, Klara; Cermak, Jaroslav; Dyr, Jan E. (2014): Proteome changes in the plasma of myelodysplastic syndrome patients with refractory anemia with excess blasts subtype 2. In: *Disease markers* 2014, S. 178709. DOI: 10.1155/2014/178709.
- Májek, Pavel; Reicheltoová, Zuzana; Suttnar, Jiří; Cermák, Jaroslav; Dyr, Jan E. (2012): Plasma protein alterations in the refractory anemia with excess blasts subtype 1 subgroup of myelodysplastic syndrome. In: *Proteome science* 10 (1), S. 31. DOI: 10.1186/1477-5956-10-31.
- March, B.; Gillies, D.; Gani, J. (2014): Appendicectomies performed 48 hours after admission to a dedicated acute general surgical unit. In: *Annals of the Royal College of Surgeons of England* 96 (8), S. 614–617. DOI: 10.1308/003588414X14055925058832.
- Margenthaler, Julie A.; Longo, Walter E.; Virgo, Katherine S.; Johnson, Frank E.; Oprian, Charles A.; Henderson, William G. et al. (2003): Risk factors for adverse outcomes after the surgical treatment of appendicitis in adults. In: *Annals of surgery* 238 (1), S. 59–66. DOI: 10.1097/01.SLA.0000074961.50020.f8.
- Masoomi, Hossein; Mills, Steven; Dolich, Matthew O.; Ketana, Noor; Carmichael, Joseph C.; Nguyen, Ninh T.; Stamos, Michael J. (2012): Does laparoscopic appendectomy impart an advantage over open appendectomy in elderly patients? In: *World journal of surgery* 36 (7), S. 1534–1539. DOI: 10.1007/s00268-012-1545-9.
- McBurney, C. (1891): II. The Indications for Early Laparotomy in Appendicitis. In: *Annals of surgery* 13 (4), S. 233–254.

- Menteş, Oner; Eryılmaz, Mehmet; Harlak, Ali; Oztürk, Erkan; Tufan, Turgut (2012): The value of serum fibrinogen level in the diagnosis of acute appendicitis. In: *Ulusal travma ve acil cerrahi dergisi = Turkish journal of trauma & emergency surgery : TJTES* 18 (5), S. 384–388. DOI: 10.5505/tjtes.2012.58855.
- Miettinen, P.; Pasanen, P.; Lahtinen, J.; Alhava, E. (1996): Acute abdominal pain in adults. In: *Annales chirurgiae et gynaecologiae* 85 (1), S. 5–9.
- Mills, Angela M.; Huckins, David S.; Kwok, Heemun; Baumann, Brigitte M.; Ruddy, Richard M.; Rothman, Richard E. et al. (2012): Diagnostic characteristics of S100A8/A9 in a multicenter study of patients with acute right lower quadrant abdominal pain. In: *Academic emergency medicine : official journal of the Society for Academic Emergency Medicine* 19 (1), S. 48–55. DOI: 10.1111/j.1553-2712.2011.01259.x.
- Mu, Alan Kang-Wai; Lim, Boon-Kiong; Hashim, Onn Haji; Shuib, Adawiyah Suriza (2013): Identification of O-glycosylated proteins that are aberrantly excreted in the urine of patients with early stage ovarian cancer. In: *International journal of molecular sciences* 14 (4), S. 7923–7931. DOI: 10.3390/ijms14047923.
- Murphy, A. L.; Murphy, R. J. (1946): MORTALITY IN APPENDICITIS. In: *Canadian Medical Association journal* 54 (4), S. 368–371.
- Mynter, H. (1891): I. On the Pathology of Appendicitis. In: *Annals of surgery* 13 (4), S. 225–232.
- N, Nanjundaiah; Mohammed, Ashfaq; Shanbhag, Venkatesh; Ashfaq, Kalpana; S A, Priya (2014): A Comparative Study of RIPASA Score and ALVARADO Score in the Diagnosis of Acute Appendicitis. In: *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* 8 (11), NC03-5. DOI: 10.7860/JCDR/2014/9055.5170.
- Nakajima, Madoka; Miyajima, M.; Ogino, I.; Watanabe, M.; Hagiwara, Y.; Segawa, T. et al. (2012): Brain localization of leucine-rich α 2-glycoprotein and its role. In: *Acta neurochirurgica. Supplement* 113, S. 97–101. DOI: 10.1007/978-3-7091-0923-6_20.
- Nakajima, Madoka; Miyajima, Masakazu; Ogino, Ikuko; Watanabe, Maki; Miyata, Haruko; Karagiozov, Kostadin L. et al. (2011): Leucine-rich α 2-glycoprotein is a marker for idiopathic normal pressure hydrocephalus. In: *Acta neurochirurgica* 153 (6), 1339-46; discussion 1346. DOI: 10.1007/s00701-011-0963-z.
- Noudeh, Younes Jahangiri; Sadigh, Nader; Ahmadnia, Amir Yousef (2007): Epidemiologic features, seasonal variations and false positive rate of acute appendicitis in Shahr-e-Rey, Tehran. In: *International journal of surgery (London, England)* 5 (2), S. 95–98. DOI: 10.1016/j.ijssu.2006.03.009.
- O'Donnell, Lynn C.; Druhan, Lawrence J.; Avalos, Belinda R. (2002): Molecular characterization and expression analysis of leucine-rich alpha2-glycoprotein, a novel marker of granulocytic differentiation. In: *Journal of leukocyte biology* 72 (3), S. 478–485.
- Oguntola, A. S.; Adeoti, M. L.; Oyemolade, T. A. (2010): Appendicitis. Trends in incidence, age, sex, and seasonal variations in South-Western Nigeria. In: *Annals of African medicine* 9 (4), S. 213–217. DOI: 10.4103/1596-3519.70956.
- Ohmann, C.; Franke, C.; Yang, Q.; Margulies, M.; Chan, M.; van Elk, P. J. et al. (1995): Diagnosescore für akute Appendicitis. In: *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizen* 66 (2), S. 135–141.
- Oravsky, M.; Bak, V.; Schnorrer, M. (2014): Laparoscopic versus open appendectomy in treatment of acute appendicitis. In: *Bratislavské lekarske listy* 115 (10), S. 660–662.
- Paajanen, H.; Mansikka, A.; Laato, M.; Ristamäki, R.; Pulkki, K.; Kostianen, S. (2002): Novel serum inflammatory markers in acute appendicitis. In: *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 62 (8), S. 579–584.
- Pickhardt, Perry J.; Suhonen, Joshua; Lawrence, Edward M.; Muñoz del Rio, Alejandro; Pooler, B. Dustin (2013): Appendiceal length as an independent risk factor for acute appendicitis. In: *European radiology* 23 (12), S. 3311–3317. DOI: 10.1007/s00330-013-2948-1.
- Pilcher, L. S. (1889): The Treatment of Appendicitis by Early Laparotomy. In: *Annals of surgery* 10 (6), S. 434–437.

- Rainer, T. H.; Leung, L. Y.; Chan, Cpy; Leung, Y. K.; Cheng, N. M.; Lai, Pbs et al. (2017): Circulating human leucine-rich α -2-glycoprotein 1 mRNA and protein levels to detect acute appendicitis in patients with acute abdominal pain. In: *Clinical biochemistry* 50 (9), S. 485–490. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2017.02.010.
- Rassow, Joachim; Hauser, Karin; Netzker, Roland; Deutzmann, Rainer (2016): Biochemie. 855 Abbildungen. 4. Auflage. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe).
- Sahm, Maik; Pross, Matthias; Otto, Ronny; Koch, Andreas; Gastinger, Ingo; Lippert, Hans (2015): Clinical Health Service Research on the Surgical Therapy of Acute Appendicitis. Comparison of Outcomes Based on 3 German Multicenter Quality Assurance Studies Over 21 Years. In: *Annals of surgery* 262 (2), S. 338–346. DOI: 10.1097/SLA.0000000000001115.
- Saito, Koichi; Tanaka, Toshiyuki; Kanda, Hidenobu; Ebisuno, Yukihiko; Izawa, Dai; Kawamoto, Shoko et al. (2002): Gene expression profiling of mucosal addressin cell adhesion molecule-1+ high endothelial venule cells (HEV) and identification of a leucine-rich HEV glycoprotein as a HEV marker. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 168 (3), S. 1050–1059.
- Salminen, Paulina; Paajanen, Hannu; Rautio, Tero; Nordström, Pia; Aarnio, Markku; Rantanen, Tuomo et al. (2015): Antibiotic Therapy vs Appendectomy for Treatment of Uncomplicated Acute Appendicitis. The APPAC Randomized Clinical Trial. In: *JAMA* 313 (23), S. 2340–2348. DOI: 10.1001/jama.2015.6154.
- Sammalkorpi, Henna E.; Leppäniemi, Ari; Mentula, Panu (2015): High admission C-reactive protein level and longer in-hospital delay to surgery are associated with increased risk of complicated appendicitis. In: *Langenbeck's archives of surgery* 400 (2), S. 221–228. DOI: 10.1007/s00423-014-1271-x.
- Sandanayake, N. S.; Sinclair, J.; Andreola, F.; Chapman, M. H.; Xue, A.; Webster, G. J. et al. (2011): A combination of serum leucine-rich α -2-glycoprotein 1, CA19-9 and interleukin-6 differentiate biliary tract cancer from benign biliary strictures. In: *British journal of cancer* 105 (9), S. 1370–1378. DOI: 10.1038/bjc.2011.376.
- Sarvari, Jamal; Mojtahedi, Zahra; Kuramitsu, Yasuhiro; Fattahi, Mohammad Reza; Ghaderi, Abbas; Nakamura, Kazuyuki; Erfani, Nasrollah (2014): Comparative Proteomics of Sera From HCC Patients With Different Origins. In: *Hepatitis monthly* 14 (1), e13103. DOI: 10.5812/hepatmon.13103.
- Schiebler, Theodor Heinrich; Korf, Horst-Werner (2007): Anatomie. Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie. 10., vollständig überarbeitete Auflage. Darmstadt: Steinkopff Verlag.
- Innere Organe. 122 Tabellen (2015). Unter Mitarbeit von Michael Schünke, Erik Schulte, Udo Schumacher und Markus Voll. 4., überarb. und erw. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme (Prometheus : LernAtlas der Anatomie / Michael Schünke, Erik Schulte ; Udo Schumacher. Ill. von Markus Voll).
- Schwick, H. G.; Haupt, H. (1981): Purified human plasma proteins of unknown function. In: *Japanese journal of medical science & biology* 34 (5), S. 299–327.
- Semm, K. (1983): Endoscopic appendectomy. In: *Endoscopy* 15 (2), S. 59–64. DOI: 10.1055/s-2007-1021466.
- Serada, Satoshi; Fujimoto, Minoru; Ogata, Atsushi; Terabe, Fumitaka; Hirano, Toru; Iijima, Hideki et al. (2010): iTRAQ-based proteomic identification of leucine-rich alpha-2 glycoprotein as a novel inflammatory biomarker in autoimmune diseases. In: *Annals of the rheumatic diseases* 69 (4), S. 770–774. DOI: 10.1136/ard.2009.118919.
- Serada, Satoshi; Fujimoto, Minoru; Terabe, Fumitaka; Iijima, Hideki; Shinzaki, Shinichiro; Matsuzaki, Shinya et al. (2012): Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis. In: *Inflammatory bowel diseases* 18 (11), S. 2169–2179. DOI: 10.1002/ibd.22936.
- Sevinç, Mert Mahsuni; Kinacı, Erdem; Çakar, Ekrem; Bayrak, Savaş; Özakay, Abdülkerim; Aren, Acar; Sarı, Serkan (2016): Diagnostic value of basic laboratory parameters for simple and perforated acute appendicitis. An analysis of 3392 cases. In: *Ulusal travma ve acil cerrahi*

- dergisi = *Turkish journal of trauma & emergency surgery* : *TJTES* 22 (2), S. 155–162. DOI: 10.5505/tjtes.2016.54388.
- Shinzaki, Shinichiro; Matsuoka, Katsuyoshi; Iijima, Hideki; Mizuno, Shinta; Serada, Satoshi; Fujimoto, Minoru et al. (2017): Leucine-rich Alpha-2 Glycoprotein is a Serum Biomarker of Mucosal Healing in Ulcerative Colitis. In: *Journal of Crohn's & colitis* 11 (1), S. 84–91. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjw132.
- Shirai, Ryoichi; Gotou, Rikiya; Hirano, Fumiyasu; Ikeda, Kiyoshi; Inoue, Seiji (2010): Autologous extracellular cytochrome c is an endogenous ligand for leucine-rich alpha2-glycoprotein and beta-type phospholipase A2 inhibitor. In: *The Journal of biological chemistry* 285 (28), S. 21607–21614. DOI: 10.1074/jbc.M110.122788.
- Shirai, Ryoichi; Hirano, Fumiyasu; Ohkura, Naoki; Ikeda, Kiyoshi; Inoue, Seiji (2009): Up-regulation of the expression of leucine-rich alpha(2)-glycoprotein in hepatocytes by the mediators of acute-phase response. In: *Biochemical and biophysical research communications* 382 (4), S. 776–779. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.03.104.
- Shogilev, Daniel J.; Duus, Nicolaj; Odom, Stephen R.; Shapiro, Nathan I. (2014): Diagnosing appendicitis. Evidence-based review of the diagnostic approach in 2014. In: *The western journal of emergency medicine* 15 (7), S. 859–871. DOI: 10.5811/westjem.2014.9.21568.
- Smith, Christopher R.; Batruch, Ihor; Bauça, Josep Miquel; Kosanam, Hari; Ridley, Julia; Bernardini, Marcus Q. et al. (2014): Deciphering the peptidome of urine from ovarian cancer patients and healthy controls. In: *Clinical proteomics* 11 (1), S. 23. DOI: 10.1186/1559-0275-11-23.
- Stein, Gideon Y.; Rath-Wolfson, Lea; Zeidman, Aliza; Atar, Eli; Marcus, Ohad; Joubran, Samia; Ram, Edward (2012): Sex differences in the epidemiology, seasonal variation, and trends in the management of patients with acute appendicitis. In: *Langenbeck's archives of surgery* 397 (7), S. 1087–1092. DOI: 10.1007/s00423-012-0958-0.
- Switzer, Noah J.; Gill, Richdeep S.; Karmali, Shahzeer (2012): The evolution of the appendectomy. From open to laparoscopic to single incision. In: *Scientifica* 2012, S. 895469. DOI: 10.6064/2012/895469.
- Takahashi, N.; Takahashi, Y.; Ortel, T. L.; Lozier, J. N.; Ishioka, N.; Putnam, F. W. (1984): Purification of glycopeptides of human plasma proteins by high-performance liquid chromatography. In: *Journal of chromatography* 317, S. 11–26.
- Talan, David A.; Saltzman, Darin J.; Mower, William R.; Krishnadasan, Anusha; Jude, Cecilia M.; Amii, Ricky et al. (2017): Antibiotics-First Versus Surgery for Appendicitis. A US Pilot Randomized Controlled Trial Allowing Outpatient Antibiotic Management. In: *Annals of emergency medicine* 70 (1), 1-11.e9. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2016.08.446.
- Tan, Winson Jianhong; Acharyya, Sanchalika; Goh, Yaw Chong; Chan, Weng Hoong; Wong, Wai Keong; Ooi, London Lucien; Ong, Hock Soo (2015): Prospective comparison of the Alvarado score and CT scan in the evaluation of suspected appendicitis. A proposed algorithm to guide CT use. In: *Journal of the American College of Surgeons* 220 (2), S. 218–224. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2014.10.010.
- Tawk, Charbel M.; Zgheib, Rana R.; Mehanna, Seba (2012): Unusual case of acute appendicitis with left upper quadrant abdominal pain. In: *International journal of surgery case reports* 3 (8), S. 399–401. DOI: 10.1016/j.ijscr.2012.05.002.
- Tung, Chun-Liang; Lin, Szu-Ting; Chou, Hsiu-Chuan; Chen, Yi-Wen; Lin, Hwan-Chung; Tung, Chung-Liang et al. (2013): Proteomics-based identification of plasma biomarkers in oral squamous cell carcinoma. In: *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 75, S. 7–17. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.11.017.
- Uen, Yih-Huei; Lin, Kai-Yuan; Sun, Ding-Ping; Liao, Chen-Chung; Hsieh, Ming-Song; Huang, Yung-Kai et al. (2013): Comparative proteomics, network analysis and post-translational modification identification reveal differential profiles of plasma Con A-bound glycoprotein biomarkers in gastric cancer. In: *Journal of proteomics* 83, S. 197–213. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.03.007.

- Varadhan, Krishna K.; Neal, Keith R.; Lobo, Dileep N. (2012): Safety and efficacy of antibiotics compared with appendectomy for treatment of uncomplicated acute appendicitis. Meta-analysis of randomised controlled trials. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 344, e2156.
- Vons, Corinne; Barry, Caroline; Maitre, Sophie; Pautrat, Karine; Leconte, Mahaut; Costaglioli, Bruno et al. (2011): Amoxicillin plus clavulanic acid versus appendectomy for treatment of acute uncomplicated appendicitis. An open-label, non-inferiority, randomised controlled trial. In: *Lancet (London, England)* 377 (9777), S. 1573–1579. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60410-8.
- Ward, Nicholas T.; Ramamoorthy, Sonia L.; Chang, David C.; Parsons, J. Kellogg (2014): Laparoscopic appendectomy is safer than open appendectomy in an elderly population. In: *JSLs : Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons* 18 (3). DOI: 10.4293/JSLs.2014.00322.
- Watson, Chris J.; Ledwidge, Mark T.; Phelan, Dermot; Collier, Patrick; Byrne, Jennifer C.; Dunn, Michael J. et al. (2011): Proteomic analysis of coronary sinus serum reveals leucine-rich α 2-glycoprotein as a novel biomarker of ventricular dysfunction and heart failure. In: *Circulation. Heart failure* 4 (2), S. 188–197. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.952200.
- Weivoda, Starchild; Andersen, John D.; Skogen, Aunica; Schlievert, Patrick M.; Fontana, Donna; Schacker, Timothy et al. (2008): ELISA for human serum leucine-rich alpha-2-glycoprotein-1 employing cytochrome c as the capturing ligand. In: *Journal of immunological methods* 336 (1), S. 22–29. DOI: 10.1016/j.jim.2008.03.004.
- Wen, Shan-Yun; Zhang, Li-Na; Yang, Xiao-Mei; Zhang, Yan-Li; Ma, Li; Ge, Qiu-Lin et al. (2014): LRG1 is an independent prognostic factor for endometrial carcinoma. In: *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 35 (7), S. 7125–7133. DOI: 10.1007/s13277-014-1953-6.
- Wiederin, Jayme L.; Donahoe, Robert M.; Anderson, James R.; Yu, Fang; Fox, Howard S.; Gendelman, Howard E.; Ciborowski, Pawel S. (2010): Plasma proteomic analysis of simian immunodeficiency virus infection of rhesus macaques. In: *Journal of proteome research* 9 (9), S. 4721–4731. DOI: 10.1021/pr1004345.
- Wilms, Ingrid M. H. A.; Hoog, Dominique E. N. M. de; Visser, Dianne C. de; Janzing, Heinrich M. J. (2011): Appendectomy versus antibiotic treatment for acute appendicitis. In: *The Cochrane database of systematic reviews* (11), CD008359. DOI: 10.1002/14651858.CD008359.pub2.
- Wu, Jing; Xie, Xiaolei; Nie, Song; Buckanovich, Ronald J.; Lubman, David M. (2013): Altered expression of sialylated glycoproteins in ovarian cancer sera using lectin-based ELISA assay and quantitative glycoproteomics analysis. In: *Journal of proteome research* 12 (7), S. 3342–3352. DOI: 10.1021/pr400169n.
- Wu, Jiunn-Yih; Chen, Hang-Cheng; Lee, Si-Huei; Chan, Rai-Chi; Lee, Chien-Chang; Chang, Shy-Shin (2012): Diagnostic role of procalcitonin in patients with suspected appendicitis. In: *World journal of surgery* 36 (8), S. 1744–1749. DOI: 10.1007/s00268-012-1579-z.
- Yaghoubian, Arezou; Kaji, Amy H.; Lee, Steven L. (2012): Laparoscopic versus open appendectomy. Outcomes analysis. In: *The American surgeon* 78 (10), S. 1083–1086.
- Zeng, Jia-wei; Wang, Shi-xin; Zhao, Xue-feng; Wei, Mao-ti; Tu, Zhi-guang (2007): Utilizing 2-DE and MALDI-TOF MS/MS to screen differentially expressed serum proteins of silicosis. In: *Zhonghua lao dong wei sheng zhi ye bing za zhi = Zhonghua laodong weisheng zhiyebing zazhi = Chinese journal of industrial hygiene and occupational diseases* 25 (3), S. 136–141.
- Zhang, Jianqiang; Zhang, Ying; Li, Ning; Liu, Zhihong; Xiong, Changming; Ni, Xinhai et al. (2009): Potential diagnostic biomarkers in serum of idiopathic pulmonary arterial hypertension. In: *Respiratory medicine* 103 (12), S. 1801–1806. DOI: 10.1016/j.rmed.2009.07.017.
- Zoarets, Itay; Poluksht, Natan; Halevy, Ariel (2014): Does selective use of computed tomography scan reduce the rate of "white" (negative) appendectomy? In: *The Israel Medical Association journal : IMAJ* 16 (6), S. 335–337.

6. Anhang

1. Handout für Patienten (4 Seiten)

Patientenaufklärung zur Bestimmung von LRG1 im Urin, Blut und Speichel

Liebe Patientin,
Lieber Patient,

Sie sind heute mit Bauchschmerzen zu uns gekommen. Bauchschmerzen können auch durch eine schwerwiegende Krankheit ausgelöst werden, die man operieren muss. Wir denken dabei im Besonderen an eine Blinddarmentzündung. Um herauszufinden, ob dies bei Ihnen der Fall ist, untersuchen wir Ihr Blut, Ihren Urin und mittels Ultraschall auch Ihren Bauch. Zusätzlich möchten wir eine Speichelprobe von Ihnen auswerten.

Einen Teil der Proben von Urin und Blut sowie die des Speichels möchten wir speziell auf eine Substanz untersuchen, die LRG1 genannt wird. Das ist ein Eiweiß, das bei einer Blinddarmentzündung vermehrt vom Körper produziert wird. Wir haben die Hoffnung, dass uns die Bestimmung von LRG1 in Zukunft die Entscheidung, ob wir operieren müssen oder nicht, deutlich erleichtern kann.

Deshalb möchten wir Sie hiermit um Erlaubnis bitten, einen Teil Ihres Urins, Ihres Blutes und Ihres Speichels auf diese Substanz hin zu untersuchen.

Uns interessiert außerdem, wie es Ihnen in einigen Wochen gehen wird und möchten Sie deshalb gerne dann auch noch einmal anrufen und uns nach Ihnen erkundigen.

Wir freuen uns über Ihre Unterstützung!

Das hilft uns sehr, in Zukunft Patienten besser behandeln zu können, die mit Bauchschmerzen, so wie Sie sie im Moment haben, zu uns kommen. Dafür bitten wir Sie, folgenden Fragebogen auszufüllen und uns Ihr Einverständnis zu Ihrer Teilnahme an unserer Studie zu geben. Der ausgefüllte Fragebogen stellt darüber hinaus für Ihren behandelnden Arzt eine Hilfe bei der Diagnosestellung und Planung des weiteren Vorgehens dar. Falls Sie noch Fragen haben, wird Ihr behandelnder Arzt diese gerne beantworten.

Studie zur Bestimmung von LRG1 im Urin bei Patienten mit Verdacht auf akute Appendizitis

Patienten-Einverständniserklärung und Datenschutzrechtliche Einwilligung

Ich bin damit einverstanden, dass bei dieser Studie personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, erhoben und auf den Servern der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie gespeichert und ausgewertet werden. Im Rahmen dieser Studie bin ich ebenfalls damit einverstanden, dass die gewonnenen Urin-, Blut- und Speichelproben für wissenschaftliche Untersuchungen verwendet werden. Ich bin darüber informiert worden, dass ich frei über eine Teilnahme oder Verweigerung entscheiden kann, und dass die Qualität meiner Behandlung nicht von meiner Entscheidung beeinflusst wird.

Auch bin ich damit einverstanden, dass ein Beauftragter des Projektleiters zusammen mit dem Arzt kontrolliert, ob die erfassten Daten und Prüfbögen übereinstimmen.

Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass ich meine Einwilligung in die Aufzeichnung, Speicherung und Verwendung meiner Daten **jederzeit** widerrufen kann. Auf eigenen Wunsch kann ich ohne Nachteile für mich aus der Studie ausscheiden. In diesem Fall informiere ich Herrn Dr. Kohl oder Frau Dr. Khochfar (Jasmin.Khochfar@med.uni-duesseldorf.de).

Bei einem Widerruf werden meine Daten unverzüglich gelöscht.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch der Studie 7 Jahre aufbewahrt werden. Danach werden meine personenbezogenen Daten gelöscht, soweit dem nicht gesetzliche, satzungsgemäße oder vertragliche Aufbewahrungsfristen entgegenstehen.

Meine persönlichen Daten wie Name, Vorname oder Geburtsdatum werden **nicht** weitergegeben. Mit meiner Unterschrift erkläre ich mich nur damit einverstanden, dass die ansonsten erhobenen Krankendaten (z. B. Blut- und Ultraschalluntersuchungen, etc.) in **ausschließlich anonymisierter** Form gegebenenfalls in wissenschaftlichen Veröffentlichungen verwendet werden können.

Alle Belange der ärztlichen Schweigepflicht und des Datenschutzes bleiben gewährleistet, das heißt, sowohl die ärztliche Schweigepflicht, als auch der Datenschutz werden dadurch nicht verletzt und bleiben erhalten.

Ich bin durch Frau/Herrn _____ über den Ablauf der Studie sowie die Behandlungsweise im obigen Sinne ausführlich aufgeklärt worden und alle meine Fragen konnten beantwortet werden.

ICH STIMME DER TEILNAHME AN DER STUDIE UNTER OBIGEN BEDINGUNGEN ZU.

Düsseldorf, den _____

Stempel der Institution/Unterschrift Arzt

Düsseldorf, den _____

Unterschrift Patient

Befunderhebungsbogen bei Bauchschmerzen:

Liebe Patientin, Lieber Patient, bitte beantworten Sie die grau unterlegten Fragen:

Telefonnummer: _____

Hausarzt: _____

1. Krankheitsverlauf:

➤ Sie haben Schmerzen seit:

unter 12 Stunden bis 24 Stunden bis 2 Tage bis 4 Tage bis 7 Tage über 7 Tage

➤ Wie stark ist der Schmerz?: 0 = kein Schmerz, 10 = stärkster vorstellbarer Schmerz
0-2 3-4 5-7 8-10

➤ Ist der Schmerz gewandert?: Ja Nein

➤ Leiden Sie unter Appetitlosigkeit?: Ja Nein

➤ Haben Sie Übelkeit/Erbrechen?: Ja Nein

➤ Wann hatten Sie den letzten Stuhlgang?: _____

➤ Bei Frauen:

Wann war die letzte Menstruation?

Wann war die letzte gynäkologische Untersuchung? Gab es damals Probleme?:

3. Vorerkrankungen: Leiden Sie unter anderen Erkrankungen?

(z.B. Diabetes =Zuckerkrankheit, Schilddrüsenerkrankungen, Herzerkrankungen, Bluthochdruck)

4. Medikamente:

Nehmen Sie täglich Medikamente ein?

Wenn ja, welche und wie viele Tabletten von jedem Medikament?

5. Befund:

- Wo genau ist der größte Schmerz? (rechts, links, oben, unten, vorne, hinten, seitlich...):

Nur durch das medizinische Personal auszufüllen:

1. Messungen:

- Temperatur: <37,3°C bis 38.5°C über 38,5°C
- Blutdruck: ____/____ mmHg
- Puls: ____/min

2. Sonographie:

Durchführender: OA Facharzt Assistenzarzt

- Darstellbarkeit des Appendix: Ja Nein
- ➔ wenn ja: Durchmesser: < 6 mm ≥ 6 mm
- ➔ Kompressibilität: Ja Nein
- ➔ Aufgehobene Wandschichtung Ja Nein

Weitere Auffälligkeiten im Sono-Befund (Gallenblase, freie Flüssigkeit, Nieren etc.):

3. Labor:

- Leukozyten: ≤ 10.000/μl ≥ 10.000/μl
- CRP <0.5mg /dl ≥0,5mg/dl

2. Heavy Peptides

Tabelle 5: Heavy Peptides

Peptidion (m/z)	Fragmention (m/z)	Kollisionsenergie [eV]	Retentionszeit Start (min)	Retentionszeit Ende (min)	iSRM Typ	Sequenz	Protein	Ion Type	Label
454,786384	723,485451	16,4	32,35	33,85	0	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y7	heavy
454,786384	622,437772	16,4	32,35	33,85	0	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y6	heavy
454,786384	509,353708	16,4	32,35	33,85	0	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y5	heavy
454,786384	396,269644	16,4	32,35	33,85	1	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y4	heavy
454,786384	325,23253	16,4	32,35	33,85	1	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y3	heavy
450,779285	715,471252	16,4	32,35	33,85	0	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y7	light
450,779285	614,423573	16,4	32,35	33,85	0	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y6	light
450,779285	501,339509	16,4	32,35	33,85	0	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y5	light
450,779285	388,255445	16,4	32,35	33,85	1	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y4	light
450,779285	317,218332	16,4	32,35	33,85	1	GQTLAVAK	sp P02750 A2GL_HUMAN	y3	light
500,284118	829,455431	17,8	33,65	35,15	0	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y8	heavy
500,284118	758,418318	17,8	33,65	35,15	0	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y7	heavy
500,284118	630,35974	17,8	33,65	35,15	1	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y5	heavy
500,284118	483,291326	17,8	33,65	35,15	1	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y4	heavy
500,284118	415,231354	17,8	33,65	35,15	0	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y8	heavy
495,279983	819,447162	17,8	33,65	35,15	0	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y8	light
495,279983	748,410049	17,8	33,65	35,15	0	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y7	light
495,279983	620,351471	17,8	33,65	35,15	1	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y5	light
495,279983	473,283057	17,8	33,65	35,15	1	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y4	light
495,279983	410,227219	17,8	33,65	35,15	0	VAAGAFQGLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y8	light
595,344372	848,486397	20,6	43,85	45,35	1	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y7	heavy
595,344372	735,402333	20,6	43,85	45,35	0	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y6	heavy
595,344372	368,204805	20,6	43,85	45,35	0	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y6	heavy
595,344372	342,202347	20,6	43,85	45,35	0	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	b3	heavy
595,344372	455,286411	20,6	43,85	45,35	1	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	b4	heavy
590,340238	838,478128	20,6	43,85	45,35	1	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y7	light
590,340238	725,394064	20,6	43,85	45,35	0	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y6	light
590,340238	363,20067	20,6	43,85	45,35	0	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	y6	light
590,340238	342,202347	20,6	43,85	45,35	0	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	b3	light
590,340238	455,286411	20,6	43,85	45,35	1	DLLLPQDLR	sp P02750 A2GL_HUMAN	b4	light

3. Studiendaten

Tabelle 6: Rohdaten

Erläuterung der Diagnosegruppen:

0:sonstige Bauchschmerzen, 1:akute Appendizitis, 2:Harnwegsinfektion, 3:Cholezystitis/symptomatische Cholezystolithiasis, 4:Sigmadivertikulitis, 5:gynäkologische Erkrankung, 6:Nierenkolik, 7:Gastritis, 8:Gastroenteritis, 9:V.a. Malignom

Pseudo- nymisierte Nr.	Diagnose- gruppe (s.o.)	Diagnose	Leukozyten im Blutbild (μ l)	CRP im Serum (mg/dl)	LRG im Urin (fmol/200ng Protein)
1	3	akute Cholezystitis	9900	3,6	487,41
2	0	sonstige Bauchschmerzen	12300	0,5	17,15
3	1	akute Appendizitis	18000	8,9	277,08
4	7	V.a.Gastritis, Reizdarmsyndrom	8000	<0,3	43,56
5	0	sonstige Bauchschmerzen	14400	0,4	13,74
6	0	sonstige Bauchschmerzen	7600	1,4	25,35
7	7	V.a. Gastritis	5900	<0,3	4,15
8	2	akute Harnwegsinfektion, eitrige Tonsillitis	14200	9,9	9,14
10	2	akute Harnwegsinfektion	10000	0,6	62,74
11	6	Nierenkolik	9400	<0,3	4,16
12	0	sonstige Bauchschmerzen, muskuloskeletale Schmerzen	9600	0,8	71,62
13	7	V.a. Gastritis	10100	0,3	44,31
15	4	V.a. Sigmadivertikulitis	15700	<0,3	73,04
16	8	V.a. Gastroenteritis	10200	<0,3	52,97
17	5	rupturierte Follikelzyste	8800	0,4	46,02
18	2	Harnwegsinfektion, Koprostase	6500	1,4	106,53
19	1	ulcero- phlegmonöse Appendizitis	11400	<0,3	5,32
25	0	sonstige Bauchschmerzen	5900	0,6	52,39
26	8	V.a. Gastroenteritis	14900	2,2	44,08
27	1	schwere ulcero- phlegmonöse Appendizitis	11200	11,8	15,91
28	8	V.a. Gastroenteritis	8100	<0,3	1,40
29	2	V.a. Harnwegsinfektion	7200	3,2	32,49
30	8	V.a. Gastroenteritis	16300	4,6	133,70
31	9	V.a. Sigmakarzinom	4600	0,8	270,28
32	1	akute Appendizitis	18400	0,3	214,15
33	0	sonstige Bauchschmerzen	8500	0,8	9,68
34	3	chron. Cholezystitis	10600	0,6	42,75
35	6	V.a. Nierenkolik, reaktive Nephritis	12700	<0,3	61,96

36	8	V.a. Gastroenteritis	6000	/	3,39
37	5	Symptomatische Ovarialzyste links	9900	<0,3	6,56
38	0	sonstige Bauchschmerzen	6600	1,5	233,71
39	0	sonstige Bauchschmerzen (symptomatische Nabelhernie)	7300	<0,3	8,92
40	2	Harnwegsinfektion	8100	1,3	7,40
41	3	Cholezystolithiasis	8700	0,8	8,55
42	8	V.a. Gastroenteritis	5100	5,2	10,64
43	0	sonstige Bauchschmerzen	5600	0,9	25,20
44	2	Harnwegsinfektion	9800	0,8	9,84
45	2	Harnwegsinfektion	13100	2,2	2,00
47	3	V.a. Cholezystitis	9300	<0,3	29,31
48	8	V.a. Gastroenteritis	9700	<0,3	6,56
49	2	Harnwegsinfektion	6100	1,1	58,29
51	9	Pleuramesotheliom, Leukämie	3400	21,4	5,33
52	4	V.a. Sigmoiddivertikulitis	10400	12,6	533,84
54	9	diffus hepatisch metastasiertes Colon Karzinom	9500	5,2	82,62
55	0	sonstige Bauchschmerzen	10400	<0,3	76,92
56	2	Harnwegsinfektion, V.a. Pyelonephritis	9100	1,8	16,57
57	2	Harnwegsinfektion	16700	7,2	72,58
58	1	akute Appendizitis	9600	5,5	31,02
60	2	Harnwegsinfektion	6300	<0,3	10,85
61	0	sonstige Bauchschmerzen	7800	<0,3	70,19
65	2	Harnwegsinfektion, beginnende Pyelonephritis	10000	1,5	1,41
71	2	Harnwegsinfektion	11800	<0,3	7,37
72	0	sonstige Bauchschmerzen	5700	2,1	131,92
74	0	sonstige Bauchschmerzen	7200	0,4	1,75
75	1	akute Appendizitis	15000	1,4	168,56
76	0	sonstige Bauchschmerzen	12100	0,6	9,77
77	0	sonstige Bauchschmerzen	6100	<0,3	1,39
78	2	Harnwegsinfektion	8200	<0,3	2,36
79	0	sonstige Bauchschmerzen	7400	3,3	5,51
80	2	Harnwegsinfektion	6100	0,7	2,61
81	5	V.a. Aminkolpitis	14300	7,6	144,47
82	0	sonstige Bauchschmerzen	6400	4,1	3,94
84	0	sonstige Bauchschmerzen, V.a. Somatisierungsstörung	5500	<0,3	7,02
86	0	sonstige Bauchschmerzen	6500	<0,3	2,38
87	0	sonstige Bauchschmerzen	8700	<0,3	24,45
89	6	Nierenkolik	10300	0,3	40,92
92	1	akute Appendizitis	14300	2,3	33,93
93	3	Akute Cholezystitis	10400	1	52,98
95	7	Gastritis	8000	3,2	71,46

97	1	akute Appendizitis	11000	15,9	426,22
98	4	Sigmadivertikulitis	16900	9	159,82
99	0	sonstige Bauchschmerzen	8600	<0,3	41,78
100	0	sonstige Bauchschmerzen, Koprostase, Z.n. Appendix Carcinom	21900	0,3	4,15
103	0	sonstige Bauchschmerzen, inkarzerierte Hernia inguinalis	6900	<0,3	56,56
106	0	sonstige Bauchschmerzen	15300	<0,3	31,54
107	3	Cholezystolithiasis	3800	0,4	101,73
108	2	Harnwegsinfektion, Obstipation	12200	<0,3	3,73
109	0	sonstige Bauchschmerzen	9900	9,5	383,21
110	1	akute Appendizitis, V.a. Rektumkarzinom	24300	13,1	22,33
111	0	sonstige Bauchschmerzen	8400	0,3	11,41
113	0	sonstige Bauchschmerzen	9500	0,4	7,84
115	0	sonstige Bauchschmerzen, Koprostase	13500	<0,3	12,98
117	4	Perforierte Sigmadivertikulitis	17500	25,6	353,77
119	2	Harnwegsinfektion	6700	<0,3	6,19
120	0	sonstige Bauchschmerzen	8300	<0,3	10,25
122	1	akute Appendizitis	14900	6,3	306,82
123	0	sonstige Bauchschmerzen	7700	5,7	181,54
124	0	sonstige Bauchschmerzen	7400	0,8	23,68
125	8	V.a. Gastroenteritis	12200	4	33,14
126	7	Antrumgastritis	6600	<0,3	5,01
128	7	Gastritis	5800	<0,3	0,46
129	0	sonstige Bauchschmerzen, Subileus	5200	<0,3	64,95
130	6	V.a. Nierenkolik, Obstipation	10300	0,1	58,52
131	1	akute Appendizitis	17900	0,1	10,36
132	7	Gastritis	9400	0,2	22,94
135	8	V.a. Gastroenteritis	6500	0,4	21,53
137	0	sonstige Bauchschmerzen	10300	0,4	104,90
138	1	akute Appendizitis	11000	0,5	2,38
140	2	Harnwegsinfektion	3400	0,2	150,75
141	3	symptomatische Cholezystolithiasis	10900	18,1	275,88
142	2	Harnwegsinfektion	6800	1,3	54,73
143	1	akute Appendizitis	10500	3,2	37,62
144	0	sonstige Bauchschmerzen, Ileitis terminalis (M.Crohn)	8100	<0,1	24,35
146	0	sonstige Bauchschmerzen, V.a. Ileitis terminalis	11500	1,5	326,41
148	8	Gastroenteritis	6400	7,9	44,22
150	1	akute Appendizitis	20400	1,8	26,89
151	2	Harnwegsinfektion	22200	0,8	22,16
152	6	Nierenkolik	10100	<0,1	24,82
155	0	sonstige Bauchschmerzen	4700	<0,1	68,56

Danksagung

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Wolfram T. Knoefel, Herrn Dr. med. Michael Kohl und Frau Dr. med. Jasmin Khochfar möchte ich für die Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe, die Überlassung des Themas und die gute Betreuung danken.

Bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Wolfram T. Knoefel möchte ich mich insbesondere auch für die finanzielle Unterstützung des Projektes und die wissenschaftliche Unterstützung bei der Verfassung meiner Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. Gereon Poschmann für die sehr engagierte Unterstützung während der gesamten Dauer des Projektes.

Ich möchte mich bei allen ärztlichen und nicht-ärztlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Chirurgischen Ambulanz der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. med. Wolfram T. Knoefel für ihre Unterstützung des Projektes bedanken.

Gleichermaßen danke ich auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Molecular Proteomics Laboratory der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Leitung von Prof. Dr. rer. nat. Kai Stühler.

Meinen Eltern, Dagmar und Manfred Ziegler und meinem Mann Dr. med. Julian Hipp danke ich sehr herzlich für ihren Rückhalt, ihre Unterstützung und Ermutigung bei der Erstellung meiner Doktorarbeit.