

Diplomarbeit

**Hepcidin als diagnostischer Marker der
Appendizitis im Kindesalter**

eingereicht von

Magdalena Schröckenfuchs

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Univ. - Klinik für Kinder- und Jugendchirurgie

unter der Anleitung von

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr. Georg Singer

Priv.-Doz. Dr. Christoph Castellani

Eidesstaatliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde unerlaubte Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 17.02.2015

Magdalena Schröckenfuchs eh.

Danksagung

Zuallererst möchte ich mich bei meinem Betreuer Georg Singer für seine tolle Unterstützung, die Geduld, die konstruktiven Vorschläge, die motivierenden Worte und die vielen guten Gespräche, aus denen ich mir wichtige Anregungen mitgenommen habe, bedanken.

Der größte Dank gilt meinen Eltern. Danke dafür, dass ihr mir immer eine starke Stütze und persönliche Vorbilder wart und dass ich so viele wertvolle Dinge von euch lernen durfte.

Danke Moriz und Elias für eure Unterstützung und die schönsten Geschwisterbeziehungen, die ich mir vorstellen kann.

Danke an meine lieben Großeltern, Onkeln, Tanten und an Uli dafür, dass ihr mich während des gesamten Studiums moralisch sowie finanziell immer tatkräftig unterstützt und mir dabei geholfen habt, persönliche und finanzielle Hindernisse zu überwinden.

Danke Christian für deine aufbauenden Worte, deine Geduld und dafür, dass Du alles so viel schöner machst.

Merci aux meilleurs amis du monde.

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG.....	1
1.1. Hintergrund.....	1
1.2. Appendix.....	3
1.2.1. Anatomie, Physiologie.....	3
1.2.2. Appendizitis.....	5
1.2.2.1. Inzidenz und Epidemiologie.....	5
1.2.2.2. Ätiologie und Pathogenese.....	5
1.2.2.3. Anamnese und körperliche Untersuchung.....	8
1.2.2.4. Bildgebung.....	9
1.2.2.5. Besonderheiten der kindlichen Appendizitis.....	11
1.2.2.6. Differentialdiagnostik.....	13
1.2.2.7. Erweiterte Labordiagnostik.....	14
1.2.2.8. Klinische Scores.....	20
1.2.2.9. Management und Therapie.....	24
1.3. Hecpidin.....	27
1.3.1. Synthese, Aufbau, Regulation.....	27
1.3.2. Ferroportin – der Hecpidinrezeptor.....	30
1.3.3. Pathologien.....	31
1.3.4. Hecpidin in der Kinderheilkunde.....	33
1.3.5. Perspektiven.....	35
2. PATIENTEN, MATERIAL, METHODEN.....	37
2.1. Studiendesign, Ethikvotum.....	37
2.2. Setting und Studienpopulation.....	37
2.3. Datengewinn, Messverfahren, Speicherung.....	38
2.4. Auswertung und Interpretation der Daten.....	40
2.5. Finanzierung der Studie.....	41

3. ERGEBNISSE.....	42
3.1. Patientenkollektiv, Analyse der Gruppen I und II.....	42
3.2. Analyse der Gruppen Ia und Ib.....	45
3.3. Korrelationen.....	48
3.4. Validitätsprüfung.....	53
3.5. Receiver Operated Characteristics, Area Under the Curve.....	56
4. DISKUSSION.....	59
5. SCHLUSSFOLGERUNG.....	64
6. BIBLIOGRAPHIE.....	65

Glossar und Abkürzungsverzeichnis

AA	akute Appendizitis
%	Prozent
SIAS	Spina iliaca anterior superior
CRP	C-reaktives Protein
etc.	et cetera
LEAP-1	Liver-expressed antimicrobial peptide
kDa	Kilodalton
ELISA	Enzyme-linked immunoassay
IL-6	Interleukin 6
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha
mRNA	Messenger ribonucleotid acid
NG	Neugeborene
cm	Zentimeter
mm	Millimeter
DNES	diffuses neuroendokrines System
Abb.	Abbildung
MALT	mucosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe
E. coli	Escherichia Coli
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
Tab.	Tabelle
Abb.	Abbildung
μ l	Mikroliter
$^{\circ}$ C	Grad Celsius
CT	Computertomografie
KU	körperliche Untersuchung
z. B.	zum Beispiel
LA	Leukozytenanzahl
PCT	Procalcitonin
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
TA	Thrombozytenanzahl
h	Stunden

SAA	Serumamyloid A
α -1-GP	Alpha -1 Glycoprotein
ESR	Erythrozytensedimentationsrate
PAS	Pediatric Appendicitis Score
OP	Operation
PPW / NPW	positiv / negativ prädiktiver Wert
PPV / NPV	positive / negative predictive value
AIRS	Appendicitis Inflammatory Response Score
NOTES	Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery
HAMP	Hepcidin Antimicrobial Peptide
Hb	Hämoglobin
BMP	Bone Morphogenetic Protein Receptor Complex
HFE	High Iron Fe
RES	reticuloendotheliales System
Fe	Eisen
Trf2	Transferrinrezeptor 2
HJV	Hämojuvelin
CKD	Chronic Kidney Disease
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
LKH	Landeskrankenhaus
y	Jahre
kg	Kilogramm
BMI	Body Mass Index
m	Meter
d	days, Tage
G/l	Giga pro Liter
g/mg/ng/dl	Gramm/Milligramm/Nanogramm/Deziliter
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ROC	Receiver Operated Characteristics
AUC	Area Under the Curve
MPV	Mean Platelet Volume
MW	Mittelwert

SD	Standardabweichung
KK	Korrelationskoeffizient
n	number, Fallzahl

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Lagevarianten der Appendix nach W. Platzer (71).....	4
Abbildung 2: Operationspräparat phlegmonöse Appendix.....	7
Abbildung 3: Sonografiebild phlegmonöse Appendix 1.....	10
Abbildung 4: Sonografiebild phlegmonöse Appendix 2.....	10
Abbildung 5: Alvarado- oder MANTRELS-Score (45).....	23
Abbildung 6: Regulation der Hecpcidinproduktion (6).....	28
Abbildung 7: Einteilung der Gruppen I und II.....	42
Abbildung 8: Einteilung der Gruppen Ia und Ib	45
Abbildung 9: Korrelation Hecpcidin - Transferrinsättigung (KK = -0,735).....	49
Abbildung 10: Korrelation Hecpcidin - Eisen (KK = -0,774).....	49
Abbildung 11: Korrelation Hecpcidin - CRP (KK = 0,646).....	50
Abbildung 12: Korrelation Hecpcidin - Leukozyten (KK = 0,629).....	50
Abbildung 13: Korrelation Hecpcidin - PAS (KK = 0,536).....	51
Abbildung 14: Korrelation PAS - Leukozyten (KK = 0,594).....	51
Abbildung 15: ROC-Kurve 1: Liegt eine Appendizitis vor?.....	57
Abbildung 16: ROC-Kurve 2: Liegt eine schwere Appendizitis vor?.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadieneinteilung der Appendizitis nach Böcker, Denk und Heitz (14)....	7
Tabelle 2: Klassische klinische Zeichen der körperlichen Untersuchung.....	8
Tabelle 3: Die häufigsten Differentialdiagnosen	13
Tabelle 4: Pediatric Appendicitis Score (41).....	20
Tabelle 5: Hepcidinspiegel gesunder Kinder (2 – 12 Jahre) (60).....	33
Tabelle 6: Hepcidinspiegel gesunder Kinder (0,5 – 3 Jahre) (64).....	34
Tabelle 7: Interpretation des Korrelationskoeffizienten.....	41
Tabelle 8: Verteilung der Geschlechter in den Gruppen I und II.....	43
Tabelle 9: Alter, Körpergröße, Gewicht und BMI der Gruppen I und II	43
Tabelle 10: Krankenhausaufenthaltsdauer der Gruppen I und II	44
Tabelle 11: Parameteranalyse der Gruppen I und II	44
Tabelle 12: Verteilung der Geschlechter in den Gruppen Ia und Ib.....	45
Tabelle 13: Alter, Körpergröße, Gewicht und BMI der Gruppen Ia und Ib	46
Tabelle 14: Parameteranalyse der Gruppen Ia und Ib	47
Tabelle 15: Korrelationen Hepcidin.....	48
Tabelle 16: Korrelationen PAS.....	48
Tabelle 17: Vierfeldertafeln der Gruppen I und II.....	53
Tabelle 18: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV für die Gruppen I und II.....	54
Tabelle 19: Vierfeldertafeln der Gruppen Ia und Ib.....	55
Tabelle 20: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV für die Gruppen Ia und Ib.....	56

Zusammenfassung

EINLEITUNG: Obwohl die akute Appendizitis zu den häufigsten kinderchirurgischen Notfällen zählt, stellt die richtige und rasche Diagnosefindung eine große Herausforderung dar. Neben klinischen Scores und bildgebenden Methoden wurden auch zahlreiche Laborwerte auf ihre diagnostische Wertigkeit untersucht. Hepcidin ist ein antimikrobielles Akutphaseprotein, das sowohl Bestandteil der angeborenen Immunabwehr als auch wichtiger Regulator der Eisenhomöostase ist. Es wurde bereits nachgewiesen, dass die Serumhepcidinkonzentration im Rahmen entzündlicher Prozesse beim Menschen erhöht ist. Ziel dieser Studie war es, die diagnostische Wertigkeit des Serumhepcidinlevels im Rahmen der akuten Appendizitis bei Kindern zu evaluieren.

METHODEN: In die Studie eingeschlossen wurden 64 Kinder und Jugendliche. Die Werte der Leukozytenanzahl, des C-reaktiven Proteins (CRP), des Serumeisenspiegels, des Ferritins, des Transferrins und des Hepcidins sowie des Pediatric Appendicitis Scores (PAS) von Patienten mit histologisch verifizierter Appendizitis wurden mit den Werten von Patienten verglichen, die aufgrund abdomineller Schmerzen im rechten Unterbauch stationär aufgenommen wurden, bei denen jedoch keine Appendizitis diagnostiziert werden konnte. Zusätzlich verglichen wir die Werte der Patienten mit perforierter Appendizitis mit jenen von Patienten mit nicht perforierter Appendizitis.

ERGEBNISSE: Bei 39 von 64 Patienten wurde eine Appendizitis diagnostiziert und operativ therapiert (Gruppe I), 25 Patienten wurden aufgrund von Schmerzen im rechten Unterbauch stationär aufgenommen und konservativ therapiert (Gruppe II). Neben dem PAS waren lediglich die Serumhepcidinwerte der Gruppe I signifikant höher als jene der Gruppe II ($31,3 \pm 21,7$ ng/ml vs. $20,4 \pm 14$ ng/ml, $p = 0,039$). Die Gruppe I wurde nochmals unterteilt in die Gruppe Ia (nicht perforierte Appendizitis, 17 Patienten) und in die Gruppe Ib (perforierte Appendizitis, 22 Patienten) wobei die Gruppe Ib signifikant höhere Serumhepcidinspiegel aufwies als die Gruppe Ia ($38,5 \pm 17,6$ ng/ml vs. $21,6 \pm 23,4$ ng/ml, $p < 0,001$). Auch der PAS, die Leukozytenanzahl, das CRP und das Ferritin waren in der Gruppe Ib signifikant erhöht.

SCHLUSSFOLGERUNG: Die Ergebnisse dieser Pilotstudie zeigen, dass Heparin in der Zukunft möglicherweise eine Rolle in der Diagnostik einer akuten Appendizitis spielen könnte. Es bedarf allerdings weiterführender Studien um ein besseres Verständnis der genauen Rolle sowie der diagnostischen Wertigkeit des Heparins zu ermöglichen.

Abstract

BACKGROUND: Appendicitis is known to be one of the most frequent causes for emergency operations in pediatric wards. Many diagnostic tools have been tested for their diagnostic value. Hepcidin, an acute phase protein is part of the innate immune system and further known as an important regulator of iron homeostasis. Several studies have shown, that serum concentrations of this protein are increased in various inflammatory conditions. The aim of this study was to evaluate the diagnostic value of serum values of hepcidin in acute appendicitis in children.

METHODS: 64 children and adolescents were included in our study. Number of leukocytes, C-reactive protein (CRP), serum levels of iron, ferritin and transferrin as well as serum levels of hepcidin and the Pediatric Appendicitis Score (PAS) were assessed. We compared the values of patients with appendicitis to a group of patients with inpatient treatment due to abdominal lower right quadrant pain without appendicitis. Additionally, the values of patients with perforated appendicitis were compared to patients with non-perforated appendicitis.

RESULTS: 39 out of 64 patients included in the study had appendicitis and were treated operatively (Group I), 25 patients were admitted for abdominal right lower quadrant pain and were treated conservatively as inpatients (Group II). Neither age, height nor weight differed among the two groups. Group I revealed significantly higher serum levels of PAS and hepcidin compared to Group II (hepcidin: 31.3 ± 21.7 ng/ml vs. 20.4 ± 14 ng/ml, $p = 0.039$), while other parameters were not significantly different among the two groups. 22 out of the 39 operatively treated patients were diagnosed a perforated appendicitis and 17 children were treated with non-perforated appendicitis. Perforated appendicitis was associated with significantly elevated hepcidin concentrations compared to non-perforated appendicitis (38.5 ± 17.6 ng/ml vs. 21.6 ± 23.4 ng/ml, $p < 0.001$).

CONCLUSION: Results of this study show that serum levels of hepcidin might play a future role in the diagnosis of acute appendicitis in children and adolescents. Further studies are required to define normal serum hepcidin level ranges among different age groups as well as to unravel the exact role and the prognostic value of hepcidin in the diagnosis of appendicitis.

1. EINLEITUNG

1.1. Hintergrund

Die akute Appendizitis (AA) gilt als häufigste Ursache für abdominalchirurgische Eingriffe in der Kinderchirurgie. Das Lebenszeitrisko an einer AA zu erkranken beträgt zwischen sieben und neun Prozent und häuft sich vor allem in der zweiten Lebensdekade. Besonders im Kindesalter ist die Morbidität der Erkrankung hoch und die Perforationsrate der entzündeten Appendix mit konsekutiver Peritonitis beträgt bis zu 70% (1,2).

Obwohl sich hinter akuten Bauchschmerzen meist selbstlimitierende, harmlose Erkrankungen verbergen, kann der Schmerz Alarmsignal für einen chirurgischen Notfall sein. Die große Herausforderung behandelnder Ärzte ist es daher, eine frühzeitige und sichere Diagnose zu stellen um dem Patienten schnellstmöglich die adäquate Therapie zukommen zu lassen (3).

Vor allem bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern gestaltet sich jedoch die Diagnosefindung oft als überaus schwierig. Neben der bereits beschriebenen hohen Perforationsrate kommt als weitere Problematik hinzu, dass 20-50% der entfernten Appendizes in der postoperativ durchgeführten histologischen Untersuchung keine Entzündungszeichen aufweisen. Dies lässt sich dadurch erklären, dass im Zweifel meist aufgrund der möglichen schwerwiegenden Komplikationen einer AA auch bei nicht eindeutiger Klinik aber dringendem Verdacht auf diese Erkrankung operiert wird (2,4).

Das standardmäßige Vorgehen bei der Untersuchung von Kindern, die mit Verdacht auf eine AA vorstellig werden, besteht aus der ausführlichen Anamnese und zielgerichteten körperlichen Untersuchung mit anschließender Messung von Entzündungswerten im Blut (Leukozytenanzahl (LA) und C-reaktives Protein (CRP)) sowie einer sonografischen Untersuchung des Abdomens mit besonderer Berücksichtigung der Appendix. Weiters wird – um einen Harnwegsinfekt ausschließen zu können – eine Urinanalyse angeordnet. Bei Mädchen im gebärfähigen Alter muss mittels Schwangerschaftstest eine Schwangerschaft ausgeschlossen werden. Da diese Untersuchungen jedoch sehr unspezifisch und

für viele Störfaktoren (Compliance bei der Untersuchung, schlechte Bildqualität in der Sonografie durch Meteorismus, etc.) anfällig sind, ist nach wie vor eine Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten sehr erstrebenswert. Diese sollte im Idealfall einerseits unnötige operative Eingriffe bestmöglich verhindern, andererseits dabei helfen, die Morbidität der Erkrankung zu senken und in weiterer Folge zur Kosteneinsparung im Gesundheitssystem beitragen.

Im Jahr 2000 entdeckten Park et al. ein neues, β -Defensin ähnliches, Protein mit antimikrobiellen sowie antifungalen Eigenschaften. Das ursprünglich LEAP-1 (Liver-Expressed Antimicrobial Peptide) genannte Protein trägt heute den Namen Hecpidin. Dieses von der Leber gebildete Protein mit einer Größe von 2 - 3 kDa kann sowohl im Urin nachgewiesen als auch mittels ELISA-Verfahren im Blutserum gemessen werden. Es wird ob seiner Eigenschaften als Bestandteil der angeborenen Immunabwehr angesehen (5).

Zusätzlich zu den oben genannten immunologischen Eigenschaften konnte Hecpidin als Schlüsselhormon der Eisenhomöostase im menschlichen Körper identifiziert werden. Durch seine Bindung an Ferroportin werden die intestinale Eisenabsorption sowie die Eisenfreisetzung aus den Makrophagen und Hepatozyten herabgesetzt. Dies führt zu einem Absinken des Eisenspiegels im Blutplasma (6,7). Folglich steht pathogenen Keimen weniger von dem für sie überlebenswichtigem Eisen im Blutplasma zur Verfügung.

Nemeth et al. wiesen nach, dass es durch IL-6 Stimulation, nicht jedoch durch IL-1- oder TNF- α -Stimulation in vitro zu einem drastischen Anstieg der Hecpidin-mRNA kommt und das Protein somit als Typ-II-Akutphaseprotein (APP) klassifizierbar ist (8).

Weiters wurde nachgewiesen, dass die Hecpidinkonzentration im Harn freiwilliger Probanden innerhalb weniger Stunden nach der Infusion von Interleukin-6 (IL-6) oder Lipopolysacchariden durchschnittlich um 7% anstieg; gleichzeitig konnte ein Absinken des Eisenspiegels im Blut verzeichnet werden (9,10).

Unsere Hypothese – dass *Hecpidin als akute Phase Protein ein nützlicher diagnostischer Marker im Rahmen der AA bei Kindern* sein könnte – wurde durch eine Studie von Yapakci et al., die 2009 publiziert wurde, bekräftigt und soll in der

vorliegenden Arbeit überprüft werden. Yapakci beschreibt, dass die Prohepcidin-Spiegel bei Neugeborenen (NG) mit Sepsis im Vergleich zu gesunden NG signifikant erhöht sind; selbiges gilt für Frühgeborene mit Sepsis. Dies ist einerseits ein erster möglicher Hinweis darauf, dass Hepcidin im Rahmen der neonatalen Sepsis in erster Linie als Akutphaseprotein agiert und andererseits ein Anhaltspunkt dafür, dass Hepcidin möglicherweise ein geeigneter Marker zur Diagnostik entzündlicher Prozesse wie der akuten Appendizitis sein könnte (11).

Ziel der im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit durchgeführten Studie war es, herauszufinden, ob die routinemäßige Messung der Hepcidinkonzentration im Blutplasma bei Verdacht auf eine AA im Kindesalter in Kombination mit den bereits etablierten diagnostischen Möglichkeiten zu einer rascheren und exakteren Diagnosestellung genutzt werden kann und ob die Höhe der gemessenen Werte Rückschlüsse auf das Ausmaß einer vorliegenden Entzündung ziehen lässt.

1.2. Appendix

1.2.1. Anatomie, Physiologie

Die Appendix vermiformis ist ein blind endendes, rudimentäres Darmstück mit einer Länge von 2 – 20 cm und einem Durchmesser von 0,5 – 1 cm. Sie geht beim Neugeborenen trichterförmig in das Caecum über, während sie beim Erwachsenen meist scharf abgesetzt und ist am häufigsten dorsomedial des Caecums zu finden ist. Ihr Ursprung liegt etwa 2 – 3 cm unterhalb der Bauhin-Klappe (Valva ileocaecalis), an der das terminale Ileum in den Dickdarm einmündet. Der Wand- und Schleimhautaufbau entspricht grundsätzlich jenem des Colons bzw. Rectums, weist jedoch einige Besonderheiten auf. Die aus dem Dickdarm einstrahlenden Taenien bilden eine einheitliche Längsmuskellage und in die Schleimhaut eingelagert sind zahlreiche Folliculi lymphatici aggregati zu finden. Die Schleimhaut selbst weist in der histologischen Betrachtung Krypten auf, die jedoch über den Gipfeln der Lymphfollikel fehlen.

Im Zusammenhang mit der AA erwähnenswert ist das enge Lumen des Wurmfortsatzes (in etwa 2 mm), das physiologischerweise Schleim und etwas

Darminhalt enthält, aber auch teilweise oder vollständig verschlossen sein kann. Dadurch kann der Weitertransport des Faezes behindert und somit die Bildung von Kotsteinen und die Vermehrung von Bakterien begünstigt werden. Zusätzlich sind frei im Epithel und in der Lamina propria mucosae in der Nähe der Nerven enterochromaffine Zellen zu finden, die dem diffusem neuroendokrinen System (DNES) zugeordnet werden (12–14).

Die Mesoappendix, eine dreieckige Bauchfellduplikatur, führt als versorgendes Gefäß die Arteria appendicularis und gesteht der Appendix eine gewisse Beweglichkeit zu.

Von großer Bedeutung in der Diagnostik von Pathologien der Appendix ist es, über die sehr variable Topografie des Wurmfortsatzes im Bezug auf das Caecum Bescheid zu wissen (siehe Abbildung 1).

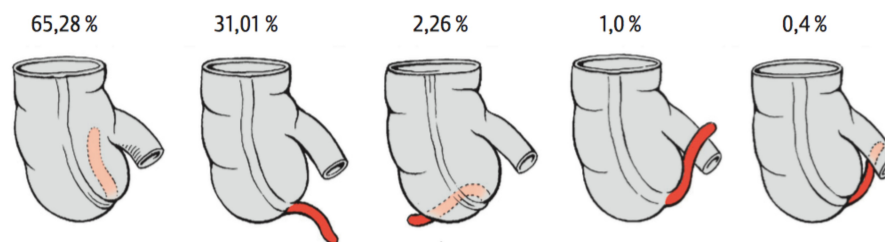


Abbildung 1: Lagevarianten der Appendix nach W. Platzer (71)

Folgende Varianten sollten besonders berücksichtigt werden (12):

1. Retrokölalposition: in 2/3 der Fälle ist die Appendix hinter dem Caecum nach oben geklappt (Abb.1 Bild 1)
2. Kaudalposition: in 31% der Fälle steigt die Appendix in das kleine Becken ab und kann bei der Frau sogar bis an das rechte Ovar reichen (Abb.1 Bild 2)
3. Lateralposition: die Appendix steigt zwischen Caecum und lateraler Bauchwand auf (Abb.1 Bild 3)
4. Medialposition: die Appendix ist nach medial verlagert und kann präileal (Abb.1 Bild 4) oder postileal (Abb.1 Bild 5) liegen

Die physiologische Bedeutung der Appendix ist noch weitestgehend unklar. Als Teil des mucosaassoziierten lymphatischen Gewebes (MALT) ist sie aber in jedem Fall in die Aufrechterhaltung der immunologischen Homöostase des Organismus eingebunden (14).

1.2.2. Appendizitis

1.2.2.1. Inzidenz und Epidemiologie

Mit über 130.000 Appendektomien pro Jahr in Deutschland ist die akute Appendizitis – trotz sinkender Inzidenz – die häufigste Indikation für einen abdominalchirurgischen Notfalleingriff. Seit etwa 1900 ist die Inzidenz in Europa und den USA konstant und liegt bei 100-200 Fällen pro 100.000 Personenjahre. Am häufigsten betroffen sind Patienten der zweiten und dritten Lebensdekade; im sehr jungen und oder sehr hohem Lebensalter tritt die Erkrankung seltener ein. Das Risiko einer Perforation ist jedoch vor allem bei Kindern und multimorbiden, alten Menschen hoch. Vermutlich durch verzögerte Diagnosestellung verursacht, kommt es bei Kindern unter 2 Jahren gehäuft zu einer Perforation und generalisierten Peritonitis mit einer Inzidenz von 70 - 80% (15).

1.2.2.2. Ätiologie und Pathogenese

Der exakte Entstehungsmechanismus der Appendizitis, die bis heute die häufigste Ursache für das akute Abdomen bei Kindern ist, konnte noch nicht genau identifiziert werden. Verschiedenste Risikofaktoren wie eine Lumenobstruktion, vergrößerte Lymphfollikel, bakterielle Überwucherung sowie eine ischämische Schädigung der Mucosa sollen in Kombination für den Ausbruch der Erkrankung verantwortlich sein (16).

Weiters können Koprolithen, Narben, Tumoren oder auch nicht neoplastische Polypen sowie besondere anatomische Strukturen, z.B. die Gerlach-Klappe am Eingang zur Appendix oder ein hypertropher fibromuskulärer Wandaufbau, entzündliche Prozesse begünstigen. Besondere Aufmerksamkeit verdient auch die Arteria appendicularis, die als einziges versorgendes Gefäß und funktionelle Endarterie den Wurmfortsatz versorgt. Zwischen ihren Endaufzweigungen gibt es

keine Gefäßarkaden weshalb Obstruktionen oder ein stark gesteigerter Sauerstoffbedarf ischämische Wandschäden begünstigen können. Da ischämisches Gewebe nach einiger Zeit ödematös anschwillt, kommt es zu einer venösen Stase mit nachfolgender Störung der arteriellen Versorgung. So wird ein circulus vitiosus in Gang gesetzt, der zu massiven funktionellen und strukturellen Schäden des betroffenen Organs führen kann. Durch den konsekutiven Zusammenbruch der mucosalen Barriere wird das Eindringen pathogener Keime begünstigt (14,15).

Routinemäßig wird nach einer Appendektomie bei Kindern keine bakterielle Kultur angeordnet; in Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass der am häufigsten nachgewiesene Erreger das Bakterium *Escherichia coli* ist (16).

Generell ist die Erregergruppe sehr heterogen und reicht von *Bacteroides fragilis* als Vertreter der Anaerobier über das Cytomegalievirus bis hin zu Oxyuren (*Enterobius vermicularis*, Madenwurm), die in 3-4% der Operationspräparate von Kindern zwischen sieben und elf Jahren zu finden sind, jedoch nicht als kausale Erreger angesehen werden, sondern in erster Linie durch die Ablagerung von Wurmeiern zu einer Obturation des Lumens führen können.

Diskutiert werden weiters immunologische Reaktionen und eine medikamentös bedingte Entzündung, zB durch nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) (13). Diese Theorien konnten bis zum aktuellen Zeitpunkt allerdings durch keine Studie bestätigt werden.

Nach Böcker, Denk und Heitz verläuft die Appendizitis in mehreren Stadien (siehe Tab. 1), von denen allerdings nicht alle durchlaufen werden müssen und die fließend ineinander übergehen können. Teilweise sind sie sogar - im Sinne einer *restitutio ad integrum* – vollständig reversibel. Meist jedoch kommt es im Rahmen einer Defektheilung zur Narbenbildung, die wiederum Strikturen und Obliterationen und somit Reinfektionen begünstigen kann. Die Abbildung 2 zeigt das Operationspräparat einer phlegmonösen Appendix.

Stadieneinteilung der Appendizitis

Primäraffekt	Keilförmiges, granulozytäres Schleimhautinfiltrat, Erosion und Fibrinexsudation. Makroskopisch vermehrte Gefäßzeichnung der Serosa.
Phlegmonöse Appendizitis	Ausgeprägtes granulozytäres Infiltrat in allen Wandschichten, im Lumen eitriges Exsudat. Das Organ ist entzündlich geschwollen und hyperämisch, die Serosa oft fibrinös-eitrig belegt.
Ulzerophlegmonöse Appendizitis	Phlegmonös entwickeltes Entzündungsinfiltrat sowie ulzeröse Schleimhautdefekte; der makroskopische Aspekt bleibt unverändert.
Abszedierende Appendizitis	Nekrosen und Abszesse in allen Wandschichten, häufig mit Durchbruch der Serosa und Ausbreitung auf das Mesenteriolum.
Gangränöse Appendizitis	Breite Nekrosezonen, die sekundär durch Fäulniserreger besiedelt werden. Die Appendix ist schwarzrot bis graugrün verfärbt, ihre Wand ist brüchig. Perforation mit nachfolgender Peritonitis sind vergleichsweise häufig

Tabelle 1: Stadieneinteilung der Appendizitis nach Böcker, Denk und Heitz (14)



Abbildung 2: Operationspräparat phlegmonöse Appendix

1.2.2.3. Anamnese und körperliche Untersuchung

Die orientierende Basis und gleichzeitig der wichtigste Schritt in der Diagnostik einer AA ist die physikalische Untersuchung in Kombination mit einer typischen Anamnese (17). Pathognomonisch für die AA sind Bauchbeschwerden mit folgender Appetitlosigkeit. Anfangs noch diffus, können Schmerzen nach einigen Stunden besser lokalisiert werden und werden vor allem in der Periumbilikalregion konzentriert wahrgenommen. Häufig wird von Patienten eine „Wanderung“ des maximalen Schmerzpunktes von dieser Region in den rechten Unterbauch beschrieben. Diese klassische Schmerzabfolge tritt jedoch nur bei 66% der Patienten auf.

Weitere typische Begleitsymptome sind Appetitlosigkeit (fast immer vorhanden), Übelkeit und Erbrechen (bei 50-60% der Patienten), Fieber, eine Veränderung der Stuhlgewohnheiten und allgemeines Krankheitsgefühl (15).

Im Rahmen der körperlichen Untersuchung können bei Verdacht auf eine AA laut Herold et al. die in Tab. 2 angeführten charakteristische Schmerzpunkte wichtige diagnostische Hinweise liefern:

Mögliche charakteristische Befunde der körperlichen Untersuchung	
MC BURNEY - ZEICHEN	Abwehrspannung, Klopf- und Loslassschmerz am im lateralen Drittel einer gedachten Verbindungslinie zwischen dem Bauchnabel und der Spina iliaca anterior superior (SIAS)
LANZ - ZEICHEN	Schmerzen bei Druck auf das rechte Drittel der Lenzmann-Linie zwischen den beiden SIAS
BLUMBERG - ZEICHEN	kontralateraler Loslassschmerz als Zeichen der peritonealen Reizung
ROVSING - ZEICHEN	Schmerz bei retrograder Colonkompression oder retrogradem Ausstreichen des Colons
POSASSCHMERZ	Schmerzen im rechten Unterbauch beim Anheben des gestreckten Beines
DOUGLASSCHMERZ	Schmerzen bei der digitalen rektalen Untersuchungen

Tabelle 2: Klassische klinische Zeichen im Rahmen der körperlichen Untersuchung

Auch auf eine Schonhaltung (angewinkelte Knie und Beugung in der Hüfte) bzw. Schonhinken, Erschütterungsschmerz beim Hüpfen oder Husten sowie eine Abwehrspannung des Abdomens ist zu achten. Weiters empfiehlt sich eine Messung der rektoaxillären Temperaturdifferenz (positiv auf eine AA hinweisend wenn sie über 1°C beträgt) sowie die Analyse des Blutbildes zur Interpretation der klassischen Entzündungsmarker Leukozytenanzahl, neutrophile Granulozyten und CRP (18). Fieber über 38,3°C sollte an eine Perforation denken lassen ebenso wie eine Leukozytenanzahl von über 200.000 Zellen/ μ l. Im Urin kann eine Mikrohämaturie oder Leukozyturie ohne Bakteriennachweis auftreten, wenn die Appendix dem rechten Harnleiter oder der Harnblase anliegt. Die Harnanalyse ist vor allem auch wichtig, um urogenitale Erkrankungen differentialdiagnostisch auszuschließen (15).

1.2.2.4. Bildgebung

Als Mittel der Wahl in der Bildgebung gilt die Sonografie. Im Falle einer Entzündung der Appendix erscheint diese starr, vergrößert, wandverdickt und eventuell von freier Flüssigkeit umgeben (siehe Abb. 3 und 4). Weiters können Abszesse und tubuläre Strukturen auf eine AA hinweisen. Wichtig ist die Sonografie zudem um Ovarialzysten, ektope Schwangerschaften und Tuboovarialabszesse auszuschließen. Im Zweifel kann zur besseren Darstellung der Strukturen eine Computertomografie (CT) veranlasst werden. Mehrere Studien wiesen inzwischen den Vorteil einer CT gegenüber der Ultraschalluntersuchung nach; der positiv prädiktive Wert der computertomografischen Untersuchung beträgt 95 - 97% (15,18). In diesem Zusammenhang muss jedoch immer das mit einer computertomografischen Untersuchung einhergehende Strahlenrisiko bedacht werden und mit dem Benefit der Resultate einer derartigen Untersuchung abgewogen werden (19).

In den Abbildungen 3 und 4 sind Aufnahmen entzündlich vergrößerter, phlegmonöser Appendixes zu sehen (Abb. 3 Appendixdurchmesser = 0,87cm; Abb. 4 Appendixdurchmesser = 0,80cm).



Abbildung 3: Sonografiebild phlegmonöse Appendix 1

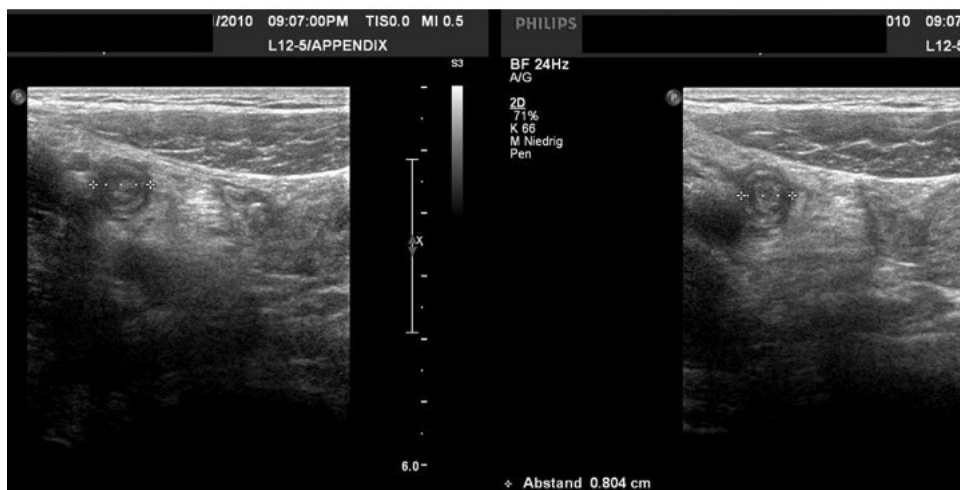


Abbildung 4: Sonografiebild phlegmonöse Appendix 2

Eine Kombination der bildgebenden Methoden mit der Interpretation entzündungsspezifischer Laborwerte ist jedoch von viel höherem diagnostischem Wert als jede Maßnahme für sich alleine und sollte daher immer angestrebt werden (20).

1.2.2.5. Besonderheiten der kindlichen Appendizitis

Die exakte Evaluierung kindlicher Bauchschmerzen stellt für die behandelnden Ärzte eine besondere Herausforderung dar; vor allem weil sich viele Erkrankungen nicht oder erst spät mit „typischen“ Symptomen präsentieren. Eine sorgfältige Anamnese und die klinische Untersuchung können dabei helfen zu unterscheiden, welche Kinder chirurgisch behandelt werden müssen und welche Kinder eher von einer weitergreifenden diagnostischen Evaluierung profitieren würden. In der Praxis liefern diese ersten diagnostischen Schritte jedoch häufig keine befriedigenden Ergebnisse (20).

Im folgenden Absatz sollen nun kurz die Besonderheiten und speziellen Problemfelder der Diagnosefindung bei Neugeborenen, Säuglingen und Kleinkindern besprochen werden. Eine Herausforderung des Anamnesegesprächs kann einerseits die Sprachbarriere sein - wenn das Kind sich noch nicht ausreichend artikulieren kann - und andererseits der Umstand, dass Kinder sowie deren Begleitpersonen - sofern sie in die Anamnese mit einbezogen werden - eine andere Wahrnehmung der Schmerzen und ihrer Intensität, ihres Charakters oder ihrer Dauer haben als die untersuchenden Ärzte. Weiters ist es wichtig, auf eine angenehme Gesprächs- und Untersuchungsatmosphäre zu achten, um ein gutes Vertrauensverhältnis aufbauen zu können. Suggestivfragen sollten unbedingt vermieden werden. Die körperliche Untersuchung stellt für schmerzgeplagte Kinder eine unangenehme Stresssituation dar, weshalb Untersuchungen wie die rektale Temperaturmessung oder potentiell schmerzhafte Manöver, z.B. die Überprüfung von Loslassschmerzen im Abdomen, nur wohl überlegt und wenn dann möglichst gegen Ende des Untersuchungsablaufs zum Einsatz kommen sollten.

Bezüglich der Bildgebung sollte immer bedacht werden, dass Kinder möglichst keiner unnötigen Strahlung ausgesetzt werden sollen. Die Durchführung einer CT bei Verdacht auf AA sollte demnach nur Ausnahmefällen vorbehalten bleiben. Mittel der Wahl ist die Sonografie, da sie in vielen Fällen wertvolle diagnostische Informationen liefert, kostengünstig und schnell verfügbar ist. Ihr diagnostischer Wert ist allerdings stark von der Erfahrung des jeweiligen Untersuchers abhängig

und kann bereits durch banale Umstände wie ein geblähtes Abdomen beträchtlich gemindert werden. Weiters ist zu bedenken, dass aufwändige Diagnostik möglicherweise eine dringende Behandlung wie die Appendektomie hinauszögern und somit mehr Schaden als Nutzen bringen kann.

Sämtliche genannten Faktoren können in nicht unwesentlichem Ausmaß zu einer verzögerten oder gar fehlerhaften Diagnosestellung und zu einer hohen Perforationsrate mit konsekutiv erhöhter Morbidität und Mortalität sowie einer ebenfalls hohen Rate negativer Appendektomien beitragen und müssen daher unbedingt berücksichtigt werden (2,4,21,22).

Eine Appendizitis sollte immer dann suspiziert werden, wenn ein Kind mit typischen Symptomen wie Schmerzen im rechten unteren Quadranten des Abdomens, schmerzhafter Bauchdeckenabwehrspannung, Übelkeit, Erbrechen oder Diarrhoe vorstellig wird. Die Initialsymptome können sehr oft nicht eindeutig charakterisiert werden und bergen immer die Gefahr einer frühzeitigen Fehldiagnose. Ein besonderer Fokus sollte daher auch auf der Suche nach möglichen Hinweisen auf eine Peritonitis wie z.B. Inaktivität, Lethargie, Hypothermie oder verzögerter kapillärer Refillzeit liegen (2).

1.2.2.6. Differentialdiagnostik

Den Beinamen „diagnostisches Chamäleon“ trägt die akute Appendizitis nicht umsonst. Die Liste möglicher Differentialdiagnosen in Tab. 3 ist sehr umfangreich und veranschaulicht einmal mehr die Komplexität der Diagnosefindung:

Differentialdiagnosen der Appendizitis			
0 – 1 Jahr	2 – 5 Jahre	6 – 11 Jahre	12 – 18 Jahre
Infantile Kolik	Gastroenteritis	Gastroenteritis	Appendizitis
Gastroenteritis	Appendizitis	Appendizitis	Gastroenteritis
Obstipation	Obstipation	Obstipation	Obstipation
Harnwegsinfekt	Harnwegsinfekt	Funktionelle Schmerzen	Dysmenorrhoe
Intussuszeption	Intussuszeption	Harnwegsinfekt	Mittelschmerz
Volvulus	Volvulus	Trauma	Adnexitis
Hernie	Trauma	Pharyngitis	Drohender Abort
Mb. Hirschsprung	Pharyngitis	Pneumonie	Ektopie Schwangerschaft
	Sichelzellanämie	Sichelzellanämie	Torsion des Ovars / Hodens
	Purpura Henoch Schönlein	Purpura Henoch Schönlein	
	Lymphadenitis Mesenterica	Lymphadenitis Mesenterica	

Tabelle 3: Die häufigsten Differentialdiagnosen nach Altersgruppen aufgeschlüsselt (3)

1.2.2.7. Erweiterte Labordiagnostik

In zahlreichen Studien wurde in den letzten Jahrzehnten nach dem *idealen Labormarker* einer akuten Appendizitis bei Kindern gesucht, da trotz großer Fortschritte in der bildgebenden Diagnostik noch keine Untersuchungsmethode gefunden werden konnte, die eine sichere und rasche Diagnose entzündlicher Veränderungen oder einer Perforation der Appendix garantieren könnte (23,24). Bis heute wurden viele Studien mit teilweise gegensätzlichen Aussagen zu diesem Thema veröffentlicht und oft ist die Interpretation und Bewertung ihrer Ergebnisse ob der heterogenen Studienpopulationen (teils Erwachsene, teils Kinder, unterschiedliche Kontrollgruppen) nur bedingt möglich (25).

C-reaktives Protein (CRP), Leukozytenanzahl (LA), Bilirubin

Standardmäßig kommen in Österreich aktuell das CRP und die LA zum Einsatz. Bei der Interpretation dieser Werte sollte immer berücksichtigt werden, dass eine Leukozytose wie eine CRP-Erhöhung unspezifische Reaktionen darstellen und verschiedenste Ursachen wie physikalischen Stress, akute oder chronische Entzündungen haben können. Dies spiegelt sich in einer akzeptablen Sensitivität von 79 – 93% aber einer eher geringen Spezifität der Leukozytose für die AA wider. Entsprechend dem Umstand, dass das Ausmaß der Leukozytose bei Kindern unter fünf Jahren generell erniedrigt ist, konnte jedoch nachgewiesen werden, dass eine Messung der LA für die Diagnosefindung in jeder Altersgruppe, mit Ausnahme der Kleinkinder, nützlicher ist als eine CRP Messung (25).

Maria F. Bates et al. verweisen in einer 2013 publizierten Studie ebenfalls auf die hohe diagnostische Wertigkeit der LA und auch darauf, dass eine nicht vorhandene Erhöhung der LA als Risikofaktor für negative Appendektomien angesehen werden sollte, sodass bei Patienten mit normalen Leukozytenwerten und fraglichen Frühsymptomen einer AA eine engmaschige klinische Evaluierung zu bevorzugen ist (25). Ein normales CRP und eine nicht erhöhte LA erlauben bei Kindern im Gegensatz zu Erwachsenen jedoch *nicht sicher* den Ausschluss einer AA (24).

In einer 2012 von Hany Noh et al. publizierten Studie wird diesen beiden Markern eine hohe Spezifität zugeschrieben. Bei Patienten mit erhöhter LA und erhöhtem CPR besteht laut Autoren ein 2,0 - 2,5 fach erhöhtes Risiko einer komplizierten Appendizitis. Gleichwertige diagnostische Qualität schreiben sie auch einer Erhöhung des Bilirubinwertes im Blut zu (21). Dies verdeutlicht, dass sowohl die LA als auch das CRP hilfreich in der Diagnostik sein können. Dennoch sollte stets bedacht werden, sie immer nur in Zusammenschau mit der klinischen Präsentation des Patienten zu interpretieren, da Frühstadien der Appendizitis keine starke Korrelation mit der Erhöhung inflammatorischer Marker aufweisen (25).

Procalcitonin (PCT)

Weiters analysiert wurde das Procalcitonin, eine Vorstufe des Calcitonins, die aus den C-Zellen der Schilddrüse sowie den K-Zellen der Lunge sezerniert wird und bei gesunden Individuen mit einer Serumkonzentration von weniger als 0,05ng/l nicht messbar ist. Die PCT-Produktion kann allerdings durch Endotoxine und inflammatorische Zytokine stimuliert werden und findet in diesem Fall in fast allen parenchymalen Geweben des Körpers statt. Wie auch das CRP steigt der Procalcitoninlevel jedoch nicht bei sterilen Entzündungen oder viralen Infekten (26). Im Rahmen mikrobieller Infekte und verschiedensten Formen des Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) konnten bis zu tausendfach erhöhte Serumlevel der Calcitonin-Vorläufer, unter anderem dem PCT, gemessen werden. Dem entsprechend belegten zahlreiche klinische Studien auch einen Zusammenhang der Serumkonzentration des PCT mit dem Ausmaß der Entzündungsreaktion, dem Verlauf und der Mortalität und schreiben ihm hohe diagnostische Wertigkeit zu. Dennoch sollen die Calcitonin-Vorläufer immer in Zusammenschau mit der klinischen Symptomatik bewertet werden, da einerseits nicht bei allen septischen Patienten hohe Serumlevel nachweisbar sind und andererseits Patienten mit Entzündungsprozessen im Körper auch fast nicht nachweisbare Serumkonzentrationen aufweisen können (27) Kontradiktorisch dazu billigen Yu et al. dem PCT im Rahmen ihrer 2012 publizierten Metaanalyse allerdings keine

große diagnostische Wertigkeit für die AA zu. Eine Ausnahme davon stellen komplizierte Fälle dar - in diesem Rahmen beträgt die positive Likelihood-Ratio 9,53 (4,93 bis 18,40). In ausgewählten Settings könne PCT demnach als wertvolle diagnostische Hilfe angesehen werden (26).

2010 wurde von Chandel et al. eine Arbeit publiziert, die sich explizit auf den Zusammenhang zwischen kindlicher Appendizitis und dem PCT-Level im Patientenserum konzentriert. Bezugnehmend auf eine frühere Studie, die dem PCT eine bessere diagnostische Performance als dem CRP im Rahmen invasiver bakterieller Infektionen bei Kindern zuschreibt (28), konnte bei dieser prospektiven klinischen Studie nachgewiesen werden, dass eine Analyse des Serum-PCT erstens Rückschlüsse auf das Ausmaß einer Appendizitis zulässt und zweitens signifikant erhöhte Werte im Falle einer akuten, komplizierten Appendizitis gemessen werden können. Weiters wurde festgestellt, dass die PCT Spiegel in jener Probandengruppe mit histopathologisch bestätigter AA statistisch signifikant höher war als in jener Gruppe mit Kindern, die zwar wegen akuter Bauchschmerzen aufgenommen wurden, bei denen jedoch keine Appendizitis nachgewiesen werden konnte. Die PCT-Messung erreichte in dieser Studie eine Sensitivität von 95,65% für eine histopathologisch bestätigte Appendizitis und eine Spezifität von 100%; Der positiv prädiktive Wert betrug 100% und der negativ prädiktive Wert 83,3% (29).

Thrombozytenanzahl (TA)

Bilici et al. konnten im Rahmen ihrer retrospektiven Studie mit einem Patientenkollektiv von 100 Kindern mit diagnostizierter Appendizitis und 100 gesunden Kindern in der Kontrollgruppe eine Korrelation zwischen dem Absinken der TA und dem Vorliegen einer Appendizitis feststellen. Da dieses Ergebnis jedoch durch einige Limitationen (retrospektives Studiendesign, kleines Patientenkollektiv) nur bedingt als tatsächliche Causa zu interpretieren ist, empfehlen die Autoren die Einbeziehung der TA in die Evaluierung pädiatrischer Patienten mit Verdacht auf AA daher nur in Zusammenschau mit bereits etablierten Laborparametern wie der Leukozytenanzahl und der klinischen Symptomatik (30).

Interleukine 6 und 8 (IL-6, IL-8)

Weiters verglich eine 2011 veröffentlichte Studie erstmals „neue“ Biomarker (IL-6 und IL-8) mit den „alten“ Markern CRP, LA und der Neutrophilenanzahl in einer prospektiven Kohortenstudie mit Kindern zwischen 3 und 18 Jahren. Alle Marker mit Ausnahme des IL-8 waren statistisch signifikant höher bei Kindern mit nichtperforierter Appendizitis als bei Kindern ohne Appendizitis ($p < 0,001$). Signifikante Unterschiede wurden ebenfalls gemessen bei Kindern mit perforierter Appendizitis verglichen mit jenen ohne Perforation. Zusätzlich wurden die Serumlevel der Biomarker auch in Zusammenhang mit der Schmerzdauer analysiert. Basierend auf den Ergebnissen erscheint die LA als nützlichster Biomarker bei Patienten mit einer Schmerzdauer von <24 h oder >48 h, während CRP der beste Marker im Zeitraum von 24-48 h nach Schmerzbeginn ist. IL-6 scheint den größten diagnostischen Wert im Zeitraum von 24-48 h zu haben und kann dabei helfen, zwischen Appendizitispatienten mit und ohne Perforation zu unterscheiden, während IL-8 keine große diagnostische Wertigkeit zugeordnet werden konnte. Da diese Ergebnisse sich nicht vollständig mit jenen aus vergleichbaren Studien decken, vermuten die Autoren, dass - auch ihren eigenen Zeitanalysen entsprechend - der diagnostische Wert eines Biomarkers stark vom Messzeitpunkt in Bezug auf den Schmerzbeginn abhängig ist und demnach einer nicht unwesentlichen Fluktuation unterliegt. Daher sollte die Interpretation der Laborergebnisse immer in Zusammenschau mit der Schmerzdauer stattfinden (31).

Anderen Autoren zufolge können die Werte CRP, LA und IL-6 zwar bei der Diagnose fortgeschrittener Stadien der Appendizitis behilflich sein; sie erlauben jedoch nicht die Unterscheidung zwischen unspezifischen Bauchschmerzen in der rechten Darmbeingrube und einer akuten Appendizitis. Zusätzlich sind sie im Frühstadium einer Appendizitis nicht zwingend erhöht, was sie als sicheres Diagnostik-Tool in diesem Zusammenhang disqualifiziert (25,32).

Serumamyloid α (SAA), Calprotectin

Wie die LA und das CRP steigt das Serumlevel des SAA unter verschiedensten entzündlichen Bedingungen an. Die Veränderungen der SAA-Konzentrationen im Rahmen der Appendizitis sind jedoch deutlich ausgeprägter als jene der Leukozytenanzahl und des CRP. Erstens in Bezug auf die Geschwindigkeit des Anstieges der Serumkonzentration und zweitens in Bezug auf den prognostischen Wert: die SAA-Konzentration kann als unabhängiger Prädiktor einer akuten Appendizitis mit einer Receiver Operated Curve (ROC) von 0,96 angesehen werden. Vor allem dem CRP gegenüber schneidet der SAA-Wert deutlich besser ab in der Diagnose von Erkrankungsfällen mit niedrigem Entzündungsgrad (33). Andere Autoren billigen dem SAA zwar eine Unterscheidung zwischen Kindern mit akuter Appendizitis und gesunden Kindern oder solchen mit anderen abdominalen Erkrankungen zu, konnten jedoch in ihren Studien für die SAA-Konzentration (wie auch für Serum- und Urinkonzentration von Calprotectin) keine ausreichend hohe Sensitivität und Spezifität nachweisen, die diese beiden Werte als klinisch verwertbare diagnostische Parameter einer Appendizitis rechtfertigen würden (34,35).

Erythrozytensedimentationsrate , Tumornekrosefaktor (TNF α), Alpha-1-Glycoprotein

Auch die Erythrozytensedimentationsrate, der TNF α und das Alpha-1-Glycoprotein wurden untersucht. Es konnten allerdings keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Ausmaß und Typ einer Appendizitis gefunden werden (25).

Mittleres Plättchenvolumen (MPV)

Drei Studien untersuchten bisher den Zusammenhang des mittleren Plättchenvolumens mit der Appendizitis. Die Aussagen bezüglich der Sensitivität und Spezifität divergieren allerdings stark (30,36,37) was eine sinnvolle Interpretation des MPV in diesem Kontext momentan noch nicht zulässt. Weitere Studien zu diesem Thema sind wünschenswert.

Fibrinogen

Im August 2014 wurde von Feng et al. eine Studie publiziert, die erstmals das Fibrinogen als Marker der Perforation untersuchte. Die Autoren beschreiben eine Sensitivität von 74% und eine Spezifität von 82% für eine Perforation bei kindlicher Appendizitis (38). Auch in diesem Fall sind weitere Studien zur Untersuchung des genauen Zusammenhangs zwischen Hyperfibrinogenämie und komplizierter Appendizitis vonnöten.

1.2.2.8. Klinische Scores

Das Konzept der klinischen Scores kann sich im Alltag als sehr nützlich und reizvoll in der klinischen Evaluierung und Führung von Patienten erweisen - vor allem für junge Ärzte, deren Erfahrungsschatz noch nicht so groß ist wie jener von Kollegen, die sowohl viele exemplarische als auch untypische Fälle erlebt haben. Dennoch sollten die Anwender solcher Scores deren Ergebnisse immer mit Vorsicht interpretieren und in die Entscheidungsfindung einfließen lassen, da sie nicht selten in anderen Patientenpopulationen als der ursprünglichen Studienpopulation eine schlechtere Performance aufweisen (39,40).

1. Pediatric Appendicitis Score

2002 publizierte Madan Samuel den Pediatric Appendicitis Score (PAS; siehe Tab. 4), der die diagnostische Genauigkeit im Kontext der kindlichen Appendizitis verbessern und die hohe Inzidenzrate der negativen Appendektomien senken sollte. Der PAS kombiniert klinische Zeichen mit Laborwerten, ist konzipiert für Kinder zwischen 4 und 18 Jahren und orientiert sich an deren spezieller Physiologie.

PEDIATRIC APPENDICITIS SCORE	
signs and symptoms	points
anorexia	1
pyrexia	1
nausea / vomiting	1
migration of pain	1
raised white cell count	1
raised neutrophil count	1
right iliac fossa pain	2
cough / percussion / hopping tenderness	2
maximum points	10

Tabelle 4: Pediatric Appendicitis Score (41)

Die Punkte *right iliac fossa tenderness* sowie *cough / percussion / hopping tenderness*, speziell über dem McBurney-Punkt, haben einen guten diagnostischen Index und weisen mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das Vorliegen einer akuten Appendizitis hin. Deshalb wurde ihnen jeweils ein Wert von 2 Punkten zugeordnet. Allen anderen klinischen Symptomen (*anorexia, pyrexia, migration of pain, nausea or vomiting*) sowie den Laborwerten (*raised white cell count, raised neutrophil count*) wurde jeweils ein Punkt zugeordnet. Ein Scoreergebnis von sechs oder mehr Punkten weist auf die hohe Wahrscheinlichkeit einer Appendizitis hin und sollte in jedem Fall Anlass zu weiteren Untersuchungen geben.

Analyse der klinischen Verwertbarkeit der PAS-Scoreergebnisse: Da die acht Variablen des Scores auch bei zahlreichen anderen Erkrankungen positiv sein können, erlaubt der PAS keine hundertprozentige diagnostische Sicherheit. Er kann aber unterstützend wirken in der Entscheidung, ein Kind weiter zu observieren oder sofort zu operieren. Weiters bietet es sich an, den PAS als Schema für eine regelmäßige Evaluierung von Kindern in Observanz anzuwenden und mit seiner Hilfe den klinischen Verlauf strukturiert darzustellen (41).

Möglicherweise kann der PAS auch dabei behilflich sein, das Stadium einer Appendizitis determinieren zu können, sowie jene Patienten herauszufiltern, die eine höhere Wahrscheinlichkeit haben, postoperativ einen intraabdominellen Abszess zu entwickeln. Dies konnte allerdings bisher durch Studienergebnisse nicht eindeutig belegt werden (42).

Carisa Schneider et al. evaluierten den PAS im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie, um seine Validität in einer anderen Studienpopulation zu überprüfen. Ihren Ergebnissen zufolge (PAS \geq 6: Sensitivität = 82%, Spezifität = 65%, PPV = 54%, NPV = 88%) bietet der Score zwar nützliche diagnostische Information im Rahmen der Evaluierung von Kindern mit suspizierter Appendizitis, der positive prädiktive Wert ist allerdings nicht ausreichend hoch, um die Verwendung des Scores als alleiniges Diagnosetool für die Entscheidung zwischen Observanz und Operation zu legitimieren. Das ideale Scoring System sollte nach Ansicht der Autoren eindeutig jene Kinder, die einer sofortigen OP bedürfen, unterscheiden lassen von jenen, die mittels Bildgebung weiter

untersucht werden sollten sowie von jenen, bei denen zum aktuellen Zeitpunkt eine Observanz ausreichend ist. Diesem Ideal kann der PAS allerdings nicht entsprechen (39).

Auch Goldman et al. untersuchten den Score im Rahmen einer prospektiven Studie auf seine Nützlichkeit. Ihre Ergebnisse gelten nicht nur für die ursprünglich festgelegte Altersgruppe von 4 - 15 Jahren, sondern wurden im Rahmen dieser Studie mit Kindern zwischen einem und 17 Jahren ermittelt. Sie fanden heraus, dass ein Score unter zwei mit hoher Sicherheit eine Appendizitis ausschließt während ein Score über sieben hohe Validität für das Vorliegen einer akuten Appendizitis hat. Bei Scoreergebnissen von drei bis sechs ist allerdings keine klare Diagnose möglich, weshalb betroffene Kinder von weiteren klinischen und bildgebenden Untersuchungen wie Ultraschall und Computertomografie profitieren können. Kinder mit einem Score von null bis zwei könnten demnach weiter überwacht oder mit entsprechenden Instruktionen nach Hause entlassen werden, Kinder mit Scores von sieben oder acht sollten ohne vorangehende bildgebende Untersuchung schnellstmöglich operiert werden (43).

2. Alvarado / MANTRELS-Score

Der bekannteste Appendizitisscore für Erwachsene, der auch in Validitätsstudien bisher am besten abschnitt, ist der 1986 publizierte Alvarado- oder auch MANTRELS-Score (siehe Abb. 5) Er erlaubt eine Risikostratifizierung, hat aber zwei nicht unwesentliche Nachteile: er ist sowohl vom Alter als auch vom Geschlecht des Patienten stark abhängig (39,44). Bei Kindern ermöglicht ein Score von fünf oder weniger zwar den Ausschluss einer akuten Appendizitis; er lässt jedoch keine zuverlässige Risikostratifizierung zu und soll - wie der PAS - ob seines geringen positiv prädiktiven Werts bei Kindern nicht als alleiniges Diagnosetool eingesetzt werden (39,45).

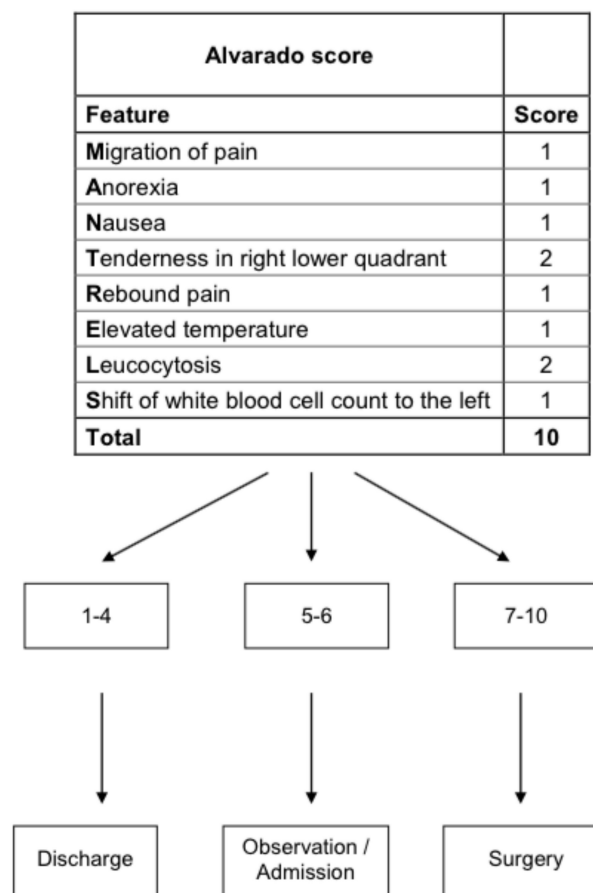


Abbildung 5: Alvarado- oder MANTRELS-Score (45)

3. Appendicitis Inflammatory Response Score

Als Weiterentwicklung des Alvarado-Scores gilt der 2008 entwickelte Appendicitis Inflammatory Response Score (AIRS), der neben den Bewertungskriterien des Alvarado-Scores auch das CRP mit berücksichtigt. Bei Kindern mit Verdacht auf eine akute Appendizitis erwies er sich als zuverlässiger als der Alvarado Score und sollte den Autoren zufolge bei der Entscheidung für oder gegen eine OP, weiterführende Diagnostik oder Observanz berücksichtigt werden (44).

1.2.2.9. Management und Therapie

Für die Behandlung der einfachen und komplizierten Appendizitis bei Kindern gibt es verschiedenste Herangehensweisen. Sie unterscheiden sich in der generellen Anwendung und Anwendungsdauer von Antibiotika, dem Operationszeitpunkt (sofort oder im Intervall), dem operativen Zugang (offen oder laparoskopisch) und der Methode des Wundverschlusses (mit/ohne Drain, primär oder verzögert). Bis heute gibt es keinen definierten Standard in der Behandlung (46).

Zu den grundlegenden und einheitlichen Behandlungsprinzipien gehören jedoch eine gewissenhafte Überwachung des Wasser- und Elektrolythaushaltes sowie eine adäquate Analgesie. Aufgrund von Appetitlosigkeit, Fieber, Erbrechen oder Durchfall kann es zu wesentlichen Verschiebungen im Wasser- und Elektrolythaushalt kommen, die - vor allem auch im Hinblick auf eine Operation - so rasch und schonend wie möglich ausgeglichen werden sollten.

Die Anwendung von Antibiotika im Rahmen der Appendizitis ist jener von Placebos klar überlegen und trägt effektiv zur Prävention von Wundinfekten und intra-abdominellen Abszessen bei. Studien, die explizit mit Kindern durchgeführt wurden, lieferten Ergebnisse, die zwar dieser Theorie entsprechen, jedoch keine statistische Signifikanz aufweisen. Egal ob prä-, peri- oder postoperativ verabreicht, tragen die Antibiotika zur Prävention postoperativer Komplikationen bei (48).

Es wird allerdings immer noch kontrovers diskutiert, ob eine Antibiotikagabe tatsächlich bei jeder Appendektomie oder nur bei der komplizierten, phlegmonösen Appendizitis erfolgen soll. Während in der klinischen Praxis eine antibiotische Therapie meist nur im Falle einer komplizierten Appendizitis erfolgt, verweisen Andersen et al. in ihrem 2009 publizierten Review „Antibiotics versus placebo for prevention of postoperative infection after appendicectomy“ darauf, dass der Einsatz von Antibiotika in sämtlichen pathologischen und anatomischen Subgruppen (also auch im Falle einer nicht entzündlich veränderten Appendix) die Häufigkeitsraten von Wundinfektion und Abszessbildung zu senken vermag (48). Der Zeitrahmen, in dem eine operative Therapie erfolgt, soll möglichst die ersten 24 h der Hospitalisation nicht überschreiten, da später angesetzte Operationen mit höheren Komplikations- und Morbiditätsraten assoziiert sind (47).

Die Frage nach der richtigen Operationstechnik ist allerdings schon schwieriger zu beantworten, da Studien, die die laparoskopische mit der offenen Appendektomie vergleichen, sehr unterschiedliche Ergebnisse liefern. Einige warnen vor erhöhtem Risiko intraabdomineller Abszesse und Wundinfekte bei der laparoskopischen Behandlung einer perforierten Appendix während andere diese Operationstechnik der offenen Appendektomie nicht unterlegen sehen. In der Analyse prospektiver Studien sind keine signifikanten Unterschiede bezüglich der postoperativen Morbidität zwischen den beiden OP-Techniken zu finden (48).

Wie für die Diagnostik so wird auch für die operative Therapie der Appendizitis laufend nach neuen, innovativen Lösungsansätzen gesucht. So wurde von Yu Tian et al. 2014 eine Studie publiziert, im Rahmen derer Appendektomien bei erwachsenen Patientinnen mit chronischer Appendizitis direkt im Anschluss an eine transvaginale, laparoskopische Hysterektomie durchgeführt wurden. Es wird sich in Zukunft erweisen, ob der laparoskopische Zugang zur Peritonealhöhle durch natürliche Körperöffnungen, NOTES (Natural orifice transluminal endoscopic surgery), auch in der routinemäßigen operativen Therapie der Appendizitis Eingang findet (49).

Unterschiedliche Faktoren wie das Alter und der Habitus des Kindes, die Erfahrung und Ausstattung des Operateurs, die Schwere der Erkrankung und der Zeitpunkt des operativen Eingriffes beeinflussen daher die Entscheidung für eine bestimmte OP-Technik (50).

Die laparoskopische Appendektomie erwies sich in einer 2013 von Dingemann et al. durchgeführten Evaluierung des status quo der laparoskopischen Appendektomie in Deutschland als favorisierte Therapiemethode einer akuten Appendizitis bei Kindern. Technische Details, perioperatives Management und auch die Implementierung dieser OP-Methode in Trainingsprogramme Auszubildender sind allerdings in den verschiedenen Kliniken sehr uneinheitlich. Dementsprechend fordern die Autoren die Etablierung einer nationalen Richtlinie, um eine standardisierte Behandlung möglich zu machen (51).

1.3. Hepcidin

1.3.1. Synthese, Aufbau, Regulation

Hepcidin, erstmals 2000 von Park et al beschrieben, ist ein cystinreiches Protein, das - je nach endständiger Aminosäure - in drei Formen vorliegen kann (Hepc20, Hepc22, Hepc25,) und hauptsächlich von der Leber synthetisiert wird. Das für das Hepcidin codierende Gen HAMP liegt am langen Arm des Chromosom 19 (NCBI Gene ID 57817) und codiert für ein Präpropeptid, das aus 84 Aminosäuren zusammengesetzt ist. Dieses wird im Rahmen der Prozessierung in seine reife, bioaktive Form mit einer Länge von 25 Peptiden (davon acht über Disulfidbrücken verbundene Cystine) umgewandelt (5,11,52).

Für die Evaluierung der Hepcidinproduktion gibt es verschiedene Möglichkeiten: Messung der Hepcidin-mRNA in der Leber (bisher nur in Tiermodellen möglich), Messung des Hepcidinlevels im Serum oder Plasma sowie im Urin (im Kreislauf zirkulierendes Hepcidin wird mit einer Halbwertszeit von wenigen Minuten rasch über die Nieren ausgeschieden) mittels Immunhistochemie oder Massenspektrometrie. Da die Hepcidinproduktion vor allem auf transkriptioneller Ebene reguliert wird, weist der Hepcidin-mRNA-Spiegel eine hohe Korrelation mit der Höhe des Proteinspiegels auf (53).

Wesentlich für die Interaktion mit seinem Rezeptormolekül Ferroportin ist der N-Terminus des Proteins, über den es die Internalisierung und den lysosomalen Abbau des Ferroportins triggert. Der genaue Interaktionsmechanismus konnte bisher allerdings nicht dargelegt werden (54).

Mindestens drei voneinander unabhängige Regulationsmechanismen des Hepcidinlevels konnten bisher identifiziert werden. Sie sind in Abb. 6 dargestellt:

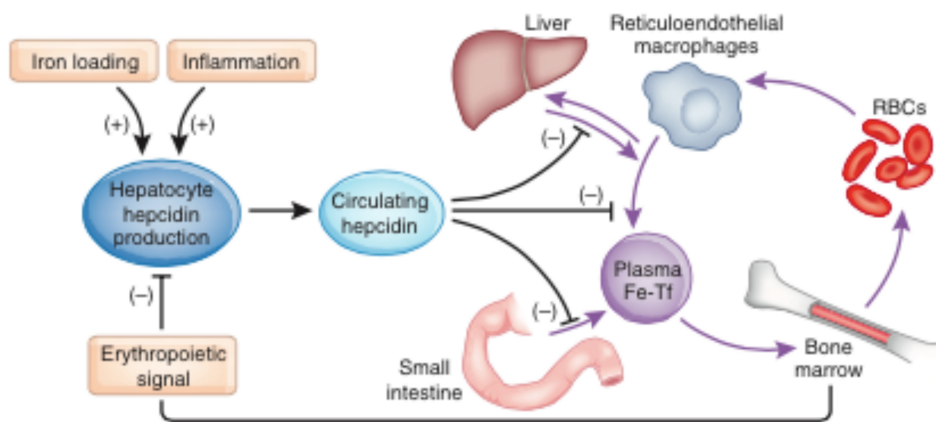


Abbildung 6: Regulation der Hepcidinproduktion (6)

Während sowohl entzündliche Geschehen als auch ein erhöhter Eisenspiegel im Blut zu einer gesteigerten Synthese von Hepcidin führen, wird sie im Rahmen der Erythropoese gedrosselt (6).

1. Entzündliches Geschehen

Im Kontext einer Entzündung scheint der wesentliche Stimulus einer vermehrten Hepcidinproduktion die erhöhte Serumkonzentration von IL-6 zu sein. Dieser Aktivierungsweg wird als Typ-II-Akute-Phase-Reaktion beschrieben. IL-6 zeigt sich also verantwortlich für eine erhöhte Hepcidinproduktion mit konsekutiv signifikanter Verminderung des Serumeisens und induziert als Zytokin selbst ebenfalls eine rasche Abnahme der Serumeisenkonzentration (8,9).

Im Folgenden sind die wichtigsten Eckpunkte der entzündungsassoziierten Regulation zusammengefasst (55):

- Eine Konzentrationserhöhung von IL-6 und die Anzahl positiver SIRS-Kriterien bei septischen Patienten sind assoziiert mit einer erhöhten Hepc25-Konzentration (bioaktive Form)

- Die Erhöhung der Heparin-Konzentration bei Patienten mit früher Sepsis korreliert mit einem Absinken des Hämoglobin-Spiegels
- Erhöhte Heparin-Werte bei septischen Patienten sind mit einem gesteigerten Bluttransfusionsbedarf assoziiert

Die veränderte Expression von Heparin und Ferroportin im Rahmen von Infekten soll dem Körper als Schutzmechanismus dienen: durch das Senken des Eisenspiegels wird dessen Verfügbarkeit für pathogene Keime eingeschränkt, sodass ihnen ein wesentliches Stoffwechselprodukt fehlt. Dies bedeutet jedoch auch, dass den erythropoetischen Vorläuferzellen ebenfalls weniger Eisen zur Verfügung steht und somit eine Eisenmangelanämie induziert werden kann (7).

Für die Entstehung der Anämie in Assoziation mit entzündlichen Prozessen scheint es zumindest zwei mögliche Mechanismen zu geben. Einerseits hat Heparin einen direkten inhibitorischen Effekt auf die Erythropoese, andererseits führt eine Entzündungsreaktion im Körper zu einer Sequestrierung des Eisens in die Zellen, was dessen Weitertransport in das Knochenmark verhindert. Dem entsprechend konnten bei Patienten mit chronischen Infekten und schweren entzündlichen Erkrankungen erhöhte Heparinspiegel nachgewiesen und auch experimentell bestätigt werden (49).

2. Serumeisenspiegel

Die Regulation über den Eisenspiegel wiederum scheint durch einen Rezeptorkomplex auf der Oberfläche der Hepatozyten zu erfolgen. Dieser *bone morphogenetic protein receptor complex*, kurz BMP, enthält zwei Proteine, die sich - in mutierter Form - für viele Varianten der hereditären Hämochromatose verantwortlich zeigen: das hereditäre Hämochromatoseprotein HFE (High Iron Fe) und das Hämoujuvelin (HJV). Der exakte molekulare Mechanismus konnte bisher allerdings nicht geklärt werden. Es wird aber vermutet, dass der BMP mit den Transferrinrezeptoren 1 und 2 interagiert und dadurch eine Verbindung zwischen der Serumeisenkonzentration und der Heparinproduktion gegeben ist (6,50).

3. Erythropoiese

Der dritte Regulationsweg im Rahmen der Erythropoiese konnte bisher am wenigsten genau erklärt werden. Es wird davon ausgegangen, dass ein im Knochenmark produzierter Marker im Rahmen der Erythropoiese die Hepcidinproduktion drosselt. In der Folge wird die intestinale Eisenresorption erhöht und aus dem im Reticuloendothelialen System (RES) vermehrt freigesetzt. So kann der erhöhte Eisenbedarf für die Inkorporation in das Hämoglobin im Rahmen der Blutbildung gedeckt werden (6).

Neben den obengenannten Regulationsfaktoren der Hepcidinproduktion wird in der jüngsten Literatur auch die mikrobielle Darmflora sowohl als aktivierender als auch als inhibierender möglicher Einflussfaktor auf die Hepcidinproduktion im Rahmen intestinaler Entzündungsprozesse diskutiert (57).

1.3.2. Ferroportin – der Hepcidinrezeptor

Das im Jahr 2000 entdeckte Protein Ferroportin agiert als Rezeptor für das Hepcidin. Zuständig für den Eisenexport aus der basolateralen Membran duodener Enterozyten, Makrophagen und plazentarer Zellen schafft es Eisen in Form von Fe^{2+} in die Blutbahn.

Ob es diese Aufgabe erfüllen kann, wird im Wesentlichen durch Hepcidin bestimmt: bindet Hepcidin an Ferroportin, so wird dieses mittels Endozytose in die Zelle aufgenommen und anschließend in Lysosomen abgebaut. In weiterer Folge kann aus der betroffenen Zelle kein Eisen mehr freigesetzt werden. Dies erklärt, warum erhöhte Hepcidinspiegel mit einem Abfall der intestinalen Eisenaufnahme sowie einer verminderten Freisetzung von Eisen aus dem Makrophagen einhergehen (7).

Donovan et al gelang es im Rahmen einer 2005 publizierten Studie das Ferroportin bei Mäusen zu inaktivieren und so in vivo nachzuweisen, dass der Eisentransfer von den enteralen Zellen ins Blutplasma vollkommen von Ferroportin abhängig ist (58).

Die Expression des Ferroportins wird auf translationeller Ebene über die intrazelluläre Eisenkonzentration geregelt. Eine wesentliche Rolle spielt dabei ein eisenregulierendes Proteinsystem, das auch auf transkriptioneller Ebene bei der Hämoglobinbildung Einfluss nimmt. Weiters wird über dieses System auch der Eisenexport aus den Makrophagen den sich ständig ändernden Bedürfnissen angepasst (7).

1.3.3. Pathologien

Die Entdeckung des Hepcidins und seiner Rolle bei der Eisenhomöostase verbesserten das Verständnis der Pathogenese und der Therapiemöglichkeiten von eisenassoziierten Erkrankungen wie Hämochromatose und Eisenmangelanämie enorm. Im Folgenden sollen nun die wichtigsten Erkrankungen und ihr Zusammenhang mit Hepcidin dargestellt werden (7).

1.3.3.1. Hepcidinmangel

Ein Hepcidinmangel führt in erster Linie zur Entwicklung einer durch exzessive Absorption bedingten systemischen Eisenüberladung. Die Ferroportinkonzentration an der basolateralen Enterozytenmembran ist erhöht, was zu einem gesteigerten Eisentransport in den Systemkreislauf führt. Auch die Makrophagen exprimieren Ferroportin in erhöhter Anzahl an ihren Zellmembranen und exportieren somit ebenfalls mehr Eisen. Das somit im Plasma stark erhöhte Eisen kumuliert in der Folge in jenen Organen, deren Eisenaufnahme größer als die Abgabe ist (59).

Unter dem Begriff Hämochromatosen wird eine heterogene Gruppe genetischer Störungen zusammengefasst, die durch eine exzessive Eisenabsorption aus der Nahrung und einer pathologischen Ablagerung des Eisens in erster Linie in der Leber aber auch anderen Organen charakterisiert ist. Die in Nord- und Zentraleuropa am häufigsten diagnostizierte Form dieser Erkrankung basiert auf einer homo- oder heterozygoten Mutation des HFE-Gens, das für das Hämochromatoseprotein codiert - ein Membranprotein, das eng mit den

Histokompatibilitäts-Antigenen verwandt ist. Diese Form der Erkrankung verläuft meist mild und ihre Ausprägung ist von vielen verschiedenen Faktoren abhängig (Geschlecht, Alkoholkonsum etc.). Als seltene, jedoch klinisch meist fulminant verlaufende Formen sind die autosomal rezessive Mutation des Transferrinrezeptors (TfR2) und die autosomal rezessive Mutation des Hämojuvelins oder Heparin-bindenden Liganden (codiert durch das HAMP-Gen) zu nennen (7).

1.3.3.2. Heparinresistenz

Verschiedene Mutationen der für Ferroportin codierenden Gene können dazu führen, dass das Ferroportin nicht mehr als Rezeptor für das Heparin fungieren kann. Dies führt zu hämochromatoseähnlichen Krankheitsbildern. Die bisher am besten erforschte Mutationsform ist C326S. Sie resultiert in früh auftretender parenchymaler Eisenüberladung bei normalen oder leicht erhöhten Heparinwerten (53).

1.3.3.3. Heparinüberschuss

Zu einem der Hämochromatose genau gegensätzlichen Phänotyp führen Mutationen an jenen Genen, die für das Membranprotein Matriptase 2 (TMPRSS6) codieren. Eine Schädigung dieses Enzyms führt bei Labormäusen und Menschen zu einer eisenrefraktären Eisenmangelanämie (IRIDA) und zeichnet sich durch klinisch normale bis hohe Serumheparinkonzentrationen trotz schwerstem Eisenmangels auf (7).

1.3.4. Hepcidin in der Kinderheilkunde

Aufgrund der noch nicht lange zurückliegenden Entdeckung des Hepcidin gibt es bisher wenige Studien, die sich konkret mit dem pädiatrischen Patientengut befassen. Um für den Vergleich mit kranken Kindern valide Referenzwerte zur Verfügung stellen zu können, wurden im Rahmen mehrerer Studien die Hepcidinkonzentrationen bei gesunden Kindern gemessen und dargestellt (60,61). In der folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der Studie „Immunoassay-Based Serum Hepcidin Reference Range Measurements in Healthy Children: Differences Among Age Groups“ von Sdogou et al. dargestellt:

	Mean (\pm SD), median (range)	2–4.9 years (n = 45)	5–9.9 years (n = 37)	10–12 years (n = 6)	P [*]
Boys	Hepcidin (ng/ml)	45.8 (\pm 23.95), 43.62 (10.32–115.73)	61.27(\pm 26.04), 57.22 (6.78–118.86)	47.58 (\pm 18.94), 48.41 (16.58–74.57)	0.01
	Ferritin (ng/ml)	44.65 (\pm 31.24), 34.5 (11–173)	49.67 (\pm 30.74), 40 (17–135)	60.16 (\pm 40.5), 58.5 (19–128)	0.60
	Hb (gr/dl)	12.16 (\pm 1.02), 12.1 (9.8–13.9)	12.9 (\pm 0.95), 13 (10.3–15.1)	14.1 (\pm 1.3), 13.6 (13.4–16.9)	<0.001
	Hepcidin (ng/ml)	51.39 (\pm 28.74), 45.98 (4.16–137.83)	55.38 (\pm 18.18), 49.78 (18.97–101.58)	60.84 (\pm 31.63), 47.94 (20.52–107.12)	0.42
		2–4.9 years (n = 48)	5–9.9 years (n = 34)	10–12 years (n = 10)	
Girls	Hepcidin (ng/ml)	51.39 (\pm 28.74), 45.98 (4.16–137.83)	55.38 (\pm 18.18), 49.78 (18.97–101.58)	60.84 (\pm 31.63), 47.94 (20.52–107.12)	0.42
	Ferritin (ng/ml)	52.62 (\pm 33.05), 49(8–160)	47.44 (\pm 34.29), 38 (14–188)	38.9 (\pm 39.8), 26 (12–145)	0.10
	Hb (gr/dl)	12.04 (\pm 1.15), 12.05 (9.8–14.4)	12.9 (\pm 1.0), 12.9 (11.9–15.6)	12.79 (\pm 0.73), 12.8 (11.6–13.9)	0.002
P ^{**}	Hepcidin (ng/ml)	0.3	0.3	0.66	
	Ferritin (ng/ml)	0.12	0.87	0.15	
	Hb (gr/dl)	0.7	0.7	0.01	

*Kruskal–Wallis test, **Mann–Whitney U test.
Hb, hemoglobin.

Tabelle 5: Hepcidinspiegel gesunder Kinder zwischen zwei und zwölf Jahren (60)

Zwei interessante Kernaussagen dieser Studien sollen hier zusammengefasst werden:

- Die Serumhepcidinkonzentration ist bei Kindern im Alter von fünf bis zwölf Jahren höher als bei jenen von zwei bis fünf Jahren. Möglicherweise ist dies erklärbar durch einen wachstumsbedingt erhöhten Eisenbedarf der Kinder unter fünf Jahren (61).
- Jungen haben einen signifikant höheren (Median: 43,6) Hepcidinspiegel als Mädchen (Median: 36,4; p = 0.039). Auch dies könnte durch eine erhöhte Wachstumsrate von Knaben und somit erhöhtem Eisenbedarf sein (60,61).

Für die Patientengruppe im Alter von sechs Monaten bis drei Jahren wurde im April 2014 eine Studie aus den Niederlanden veröffentlicht. Die Hepcidinkonzentrationen wurden sowohl mittels Massenspektrometrie als auch mittels Immunochemischen Assays (IC) ermittelt. Obwohl die mittels IC ermittelten Werte konstant höher waren als die mittels Massenspektrometrie gewonnenen, konnte stets eine Korrelation sowohl zwischen diesen beiden Werten als auch mit den ebenfalls erhobenen Werten von Ferritin sowie CRP festgestellt werden. Die Normwert-tabelle dieser Studie ist in Tabelle 6 dargestellt (62).

	N	Median	95% CI	
			P2.5	P97.5
MS-hepcidin (nmol/l)				
0.5–1 y	64	3.7	0.3	18.2
1–3 y	155	3.6	0.7	14.6
IC-hepcidin (nmol/l)				
0.5–1 y	64	10.1	2.4	32.3
1–3 y	155	7.3	1.9	27.1

Tabelle 6: Hepcidinspiegel gesunder Kinder zwischen 6 Monaten und 3 Jahren (64)

1.3.5. Perspektiven

Ein wichtiges Einsatzgebiet der in den letzten Jahren über Hepcidin gewonnenen Erkenntnisse ist die Nephrologie. Zahlreiche Studien beschäftigen sich mit der Rolle des Hepcidins bei der Entwicklung und Therapie von Eisenmangelanämien bei chronisch nierenkranken Patienten (CKD) sowie Patienten mit Nierenerkrankungen im Endstadium. Möglicherweise führen bei diesen Patienten erhöhte Hepcidinspiegel zu einer funktionellen Eisenmangelanämie oder einem Nichtansprechen auf erythropoiesestimulierende Therapie. In beiden Fällen stehen die behandelnden Ärzte vor großen therapeutischen Herausforderungen. Hinzu kommt, dass sich das Ansprechen betroffener Patienten auf unterschiedliche Therapien durch die aktuell zur Verfügung stehenden Laborparameter (meist werden Hämoglobin und Ferritin als Referenzwerte herangezogen) oft nur wenig zufriedenstellend abschätzen lässt (63).

Mehrere Studien belegen, dass sowohl bei Kindern als auch bei Erwachsenen mit CKD der Serumhepcidinspiegel negativ mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und positiv mit dem Serumferritin korreliert. Zusätzlich konnte dargelegt werden, dass bei Patienten mit einer sehr niedrigen GFR ein erhöhter Hepcidinspiegel mit einem Abfall des Hb und einem erhöhten Anämierisiko einhergeht (64).

In diesem Setting könnte Hepcidin sowohl dazu beitragen, den exakten Eisenstatus sowie das Anämierisiko chronisch nierenkranker Patienten besser erfassen zu können, als auch jene Patienten herauszufiltern, die von bestimmten Therapieformen wie der intravenösen Eisensupplementierung profitieren würden (63–65).

Dass Hepcidin auch als Akutphaseprotein wirkt, wurde durch mehrere Studien bestätigt. Seine genaue Rolle ist bisher allerdings noch nicht geklärt (10,11).

Um seinen tatsächlichen Nutzen als diagnostischen Marker im Rahmen von Entzündungen und Infektionen belegen zu können, müssen die genauen Wirkweisen des Hepcidins besser verstanden werden. Der Verlauf des Serumspiegels während und nach bakteriellen bzw. viralen Infektionen sollte analysiert werden. Einige mit Erwachsenen durchgeführte Studien geben erste Ideen von der Rolle

des Hepcidins als APP und Entzündungsmarker, beispielsweise im Rahmen einer Sepsis, bei einer Entzündung der Gallenblase oder bakteriellen Infekten, die mit einer primär sklerosierenden Cholangiitis assoziiert sind.

In einer Studie von E Yapakçı et al. wurde beispielsweise die Rolle des Prohepcidins als antimikrobielles APP im Rahmen der neonatalen Sepsis untersucht. Statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) der Prohepcidinspiegel konnten sowohl zwischen gesunden Frühgeborenen und septischen Frühgeborenen als auch zwischen gesunden Reifgeborenen und septischen Reifgeborenen festgestellt werden (11).

Generell sind aber, vor allem was das die große Patientengruppe der Kinder und Jugendlichen betrifft, noch viele Fragen offen (11,66).

2. PATIENTEN, MATERIAL, METHODEN

2.1. Studiendesign, Ethikvotum

Die monozentrische, prospektiv klinische Studie wurde an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendchirurgie der Medizinischen Universität Graz durchgeführt. Von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz wurde dafür ein positives Ethikvotum ausgestellt (EK 25-421 ex 12/13). Vor der Aufnahme der Patienten in die Studie erfolgte eine detaillierte mündliche und schriftliche Aufklärung. Das Einverständnis der Eltern bzw. der einverständnisberechtigten Jugendlichen ab dem 15. Lebensjahr wurde daraufhin in schriftlicher Form eingeholt.

2.2. Setting und Studienpopulation

Im Zeitraum von 22.11.2013 bis 08.09.2014 wurden die im Kapitel 2.3. aufgelisteten Daten und Blutproben von 80 Patienten zwischen drei und 17 Jahren gesammelt. Anschließend wurden die Patienten in die Gruppen I und II eingeteilt.

2.2.1. Gruppe I, Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden alle Patienten, die aufgrund unklarer abdomineller Schmerzen stationär aufgenommen und nach eingehender weiterführender Diagnostik (Labor, Ultraschall) entsprechend dem dringenden Verdacht auf eine Appendizitis operiert wurden.

Für die spätere Datenanalyse wurde diese Gruppe wiederum anhand der intraoperativen makroskopischen und der histologischen Beschreibung ihres Operationspräparates in zwei Einzelgruppen *Ia = leichte Appendizitis* und *Ib = schwere/perforierte Appendizitis* unterteilt.

Patienten mit folgenden intraoperativen Diagnosen wurden der Gruppe Ia zugeordnet:

- akute Appendizitis (nicht näher bezeichnet)
- katarrhalische Appendizitis
- chronische / subakute Appendizitis

Patienten mit folgenden intraoperativen Diagnosen wurden der Gruppe Ib zugeordnet:

- phlegmonöse Appendizitis
- perforierte Appendizitis
- Appendizitis mit lokalisierter Peritonitis
- gangränöse Appendizitis

Von 45 in diese Gruppe aufgenommenen Patienten mussten für die statistische Analyse des Hepcidinspiegels 6 ausgeschlossen werden, da aus ihren Proben keine verwertbaren Messergebnisse für Hepcidin gewonnen werden konnten.

2.2.2. Gruppe II, Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden alle Patienten, die aufgrund unklarer abdomineller Schmerzen stationär aufgenommen, jedoch ob fehlender Operationsindikation rein konservativ therapiert wurden.

Von 35 in diese Gruppe aufgenommenen Patienten mussten für die statistische Analyse des Hepcidinspiegels 10 ausgeschlossen werden, da aus ihren Proben keine verwertbaren Messergebnisse für Hepcidin gewonnen werden konnten.

2.3. Datengewinn, Messverfahren, Speicherung

Folgende Werte wurden dem Patientendatenverwaltungsprogramm des LKH Graz MEDOCS® entnommen:

1. Alter in Jahren (y), Gewicht in Kilogramm (kg), Größe in Metern (m), Body Mass Index (BMI)
2. Geschlecht
3. Dauer des stationären Aufenthaltes in Tagen (d)
4. Pediatric Appendicitis Score (PAS), Dauer der abdominellen Schmerzen in Tagen (d)

5. Leukozytenzahl in G/l, Thrombozytenzahl in G/l, Mean platelet volume (MPV) in fl, CRP in mg/l
6. Eisenspiegel mg/dl, Ferritin in ng/ml, Transferrin in g/dl, Transferrinsättigung in %
7. Intraoperative makroskopische sowie histopathologische Beschreibung des Operationspräparates

Der PAS wurde anhand der in den Aufnahmebögen und Arztbriefen dokumentierten anamnestischen Angaben der Patienten bzw. deren Eltern sowie anhand der klinischen Untersuchungsbefunde ermittelt.

Im Rahmen der bei unklarer abdomineller Symptomatik routinemäßig durchgeführten Blutabnahme wurde für die Messung der Hepcidinkonzentration im Serum bei jedem Studienteilnehmer ein zusätzlicher EDTA-gefüllter Vacutainer® mit Blut aus einer peripheren Vene befüllt, zentrifugiert und das Serum bei -80°C bis zur Messung des Hepcidins gelagert.

Für die quantitative Messung des Serumhepcidinspiegels wurden DRG® Hepcidin-25 ELISA-Kits der Firma Alpco gemäß der Anwendungsrichtlinien des Herstellers verwendet. Die folgende Beschreibung des Messverfahrens ist den Herstellerangaben entnommen: das Messverfahren basiert auf dem Prinzip der kompetitiven Bindung. Die Mikrotiterplatten werden mit monoklonalen Mausantikörpern benetzt, die gegen das Antigen des Hepcidin-25 Moleküls gerichtet sind. Das endogene Hepcidin der Probanden muss daraufhin mit Hepcidin-25-Biotin-Konjugaten um die Bindung an die Antikörper konkurrieren. Nach einer ersten Inkubationszeit wird nicht gebundenes Konjugat ausgewaschen. Anschließend werden Streptavidin-Peroxidase-Enzymkomplexe aufgetragen. Nicht gebundene Komplexe werden nach einer zweiten Inkubationszeit wiederum ausgewaschen und eine Substratlösung wird hinzugefügt. Der Farbumwandlungsprozess wird nach einer kurzen Inkubationszeit, in der sich die Farbe des Assays von blau zu gelb wandelt, gestoppt. Die Farbintensität ist indirekt proportional zur Hepcidinkonzentration im Patientenserum.

Sämtliche Werte wurden in einer Microsoft® Excel Datei gespeichert.

2.4. Auswertung und Interpretation der Daten

1. Die statistische Auswertung und graphische Darstellung der erhobenen Daten erfolgte mit IBM SPSS Version 22. Zu Beginn erfolgte eine demografische Beschreibung der Patientengruppen I und II. Für die kontinuierlichen Parameter Alter, Gewicht, Größe und BMI wurde eine explorative Datenanalyse durchgeführt um die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichungen (SD) darzustellen. Anschließend wurden die einzelnen Parameter beider Gruppen nach Kolmogorow-Smirnow auf Normalverteilung untersucht ($p < 0,05$). Für sämtliche Messungen wurde ein Konfidenzintervall von 95% angenommen und ein p-Wert $< 0,05$ als signifikant gewertet.

Die normalverteilten Parameter wurden mittels t-Test, die nicht normalverteilten mittels Mann Whitney U-Test miteinander verglichen um potentielle signifikante Unterschiede einzelner Parameter zwischen den Gruppen I und II feststellen zu können. Der qualitative Parameter Geschlecht wurde in einer Kreuztabelle dargestellt und mittels Chi-Quadrat-Test auf signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen I und II getestet. Auch bezüglich der Aufenthaltsdauer im Krankenhaus wurden die beiden Gruppen verglichen.

Danach wurde untersucht, ob die erhobenen Parameter PAS, Leukozytenanzahl, Thrombozytenanzahl, CRP, Hepcidin, Eisen, Transferrin, Transferrinsättigung und Ferritin zwischen Gruppe I und Gruppe II signifikante Unterschiede aufweisen. Es erfolgte eine deskriptive Beschreibung der Parameter, anschließend der Test auf Normalverteilung und eine weitere Analyse mittels Mann-Whitney U Test oder t-Test entsprechend der Normalverteilung des jeweiligen Parameters.

2. Die Gruppen *Ia* und *Ib* wurden nach selbigem Schema wie in Punkt 1 dargestellt und miteinander verglichen.

3. Die gesamte Studienpopulation wurde mittels Spearman Rangkorrelationskoeffizienten auf Korrelationen zwischen den einzelnen Laborwerten und dem PAS untersucht und die Ergebnisse signifikanter Korrelationen als Streudiagramme dargestellt.

Tab. 7 veranschaulicht das Auswerteschema der Ergebnisse der Korrelationsanalyse:

Korrelationskoeffizient	
0	kein linearer Zusammenhang
0 – 0,5	schwach linearer Zusammenhang
0,5 – 0,8	mittlerer linearer Zusammenhang
0,8 – 1	stark linearer Zusammenhang
1	perfekt linearer Zusammenhang

Tabelle 7: Interpretation des Korrelationskoeffizienten

4. Zur Überprüfung der diagnostischen Wertigkeit der erhobenen Laborwerte und des PAS wurden die ROC-Kurven mit AUC-Werten bezüglich der Gruppen I und II (liegt eine Appendizitis vor?) sowie der Gruppen Ia und Ib (liegt eine schwere Appendizitis vor?) dargestellt und berechnet.

5. Für die Berechnung der Sensitivität, der Spezifität, des positiv und des negativ prädiktiven Wertes der Laborwerte wurde im ersten Schritt die Anzahl physiologischer (=normal) und pathologischer Werte jedes einzelnen Parameters für die Gruppen I, II, Ia und Ib ermittelt und in Vierfeldertafeln dargestellt. Anschließend wurden die Zielwerte errechnet.

2.5. Finanzierung der Studie

Die Finanzierung der Studie erfolgte durch eine Forschungsförderung der Stadt Graz (Projekttitle: Hepcidin als diagnostischer Marker der Appendizitis im Kindesalter).

3. ERGEBNISSE

3.1. Patientenkollektiv, Analyse der Gruppen I und II

Von den 80 in die Studie eingeschlossenen Patienten konnten nach Anwendung der Ein- und Ausschlusskriterien 45 Patienten der Gruppe I und 35 Patienten der Gruppe II zugeteilt werden. Aufgrund unvollständiger Datensätze wurden aus der Gruppe I sechs Patienten und aus der Gruppe II zehn Patienten ausgeschlossen. Die folgende Abbildung veranschaulicht die Einteilung der Patienten in die Gruppen:

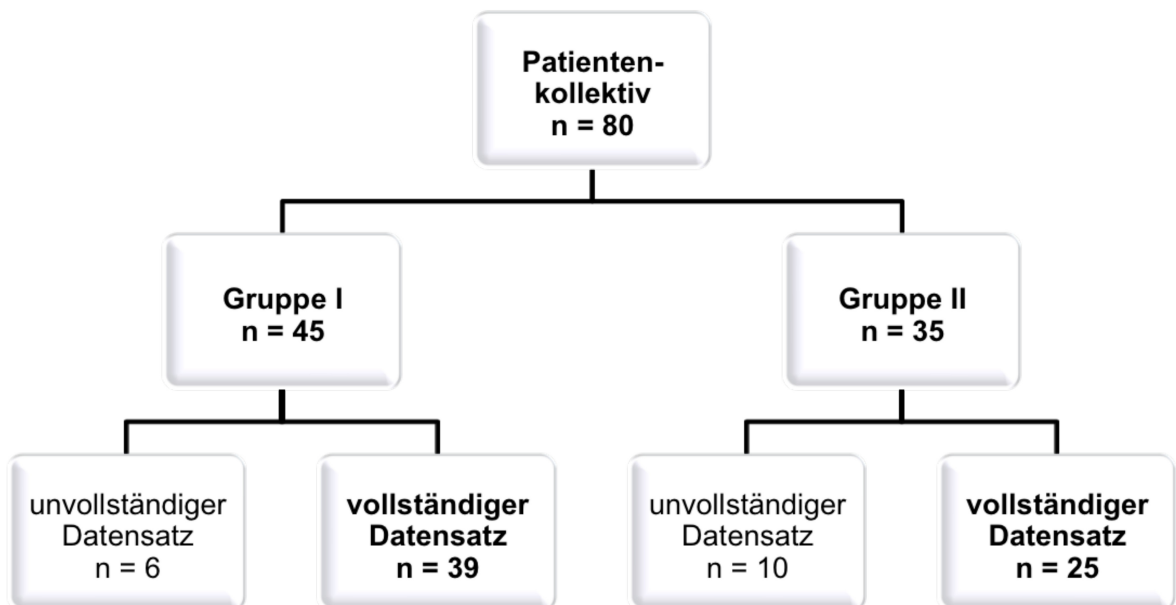


Abbildung 7: Einteilung der Gruppen I und II

Insgesamt wurden 40 Mädchen und 24 Jungen aufgenommen. Der Anteil der Mädchen an der Gruppe I betrug 64%, an der Gruppe II 40%. Jener der Jungen 36% an der Gruppe I und 60% an der Gruppe II.

Für die Verteilung der Geschlechter auf die beiden Gruppen wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt ($p = 0,743$). Tab. 8 stellt die Verteilung der Geschlechter dar:

	Gruppe I	Gruppe II	gesamt
männlich	14	10	24
weiblich	25	15	40
gesamt	39	25	64

Tabelle 8: Verteilung der Geschlechter in den Gruppen I und II

Hinsichtlich des Alters (Altersspanne 3 - 17 Jahre), der Körpergröße, des Körpergewichtes sowie des BMI bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

Das mittlere Alter der Patienten, die Standardabweichungen der Messergebnisse sowie der p-Wert der Signifikanzprüfung sind in Tab. 9 dargestellt.

	Gruppe I		Gruppe II		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Alter (y)	12,2	± 3,1	12,8	± 3,5	0,650
Körpergröße (cm)	155,3	± 17,3	156,6	± 16,3	0,753
Gewicht (kg)	46,11	± 13,7	46,1	± 17,3	0,440
BMI	18,7	± 2,9	20,1	± 3,5	0,093

Tabelle 9: Alter, Körpergröße, Gewicht und BMI der Gruppen I und II (MW = Mittelwert, SD = Standard Deviation)

Die mittlere Aufenthaltsdauer (siehe Tab. 10) im Krankenhaus betrug bei einer Gesamtspanne von 2 bis 16 Tagen 5,9 Tage bei Patienten der Gruppe I und 3,6 Tage bei Patienten der Gruppe II. Der Unterschied bezüglich der Aufenthaltsdauer ist mit $p = 0,000$ als signifikant zu werten.

Aufenthaltsdauer (d)	MW	SD
Gruppe I	5,85	± 1,6
Gruppe II	3,60	± 0,9

Tabelle 10: Krankenhausaufenthaltsdauer (in Tagen) der Gruppen I und II (d = days, MW = Mittelwert, SD = Standard Deviation)

Parameteranalyse der Gruppen I und II

In Tab. 11 sind der Mittelwert, die Standardabweichung sowie der p-Wert der Signifikanzprüfung für beide Gruppen dargestellt:

Parameter	Gruppe I		Gruppe II		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
PAS	5,9	± 1,9	3,8	± 1,7	0,000
Hepcidin	31,3	± 21,7	20,4	± 14	0,039
Leukozyten	13,7	± 5,7	9,8	± 3,9	0,098
Thrombozyten	266,9	± 66,4	265,3	± 53,6	0,694
CRP	32,9	± 46,9	20,3	± 30,5	0,335
Eisen	50,7	± 44,3	66,5	± 44,3	0,158
Transferrin	2,8	± 0,4	2,9	± 0,6	0,601
T-Sättigung	12,6	± 11,0	16,2	± 11,1	0,153
Ferritin	66,0	± 39,5	61,4	± 36,0	0,657
MPV	9,9	± 0,7	9,9	± 0,8	0,734

Tabelle 11: Parameteranalyse der Gruppen I und II (MW = Mittelwert, SD = Standard Deviation)

Ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen I und II konnte lediglich für den PAS und das Hepcidin festgestellt werden.

3.2. Analyse der Gruppen Ia und Ib

Nach Analyse der intraoperativen Diagnosen sämtlicher Patienten der Gruppe I mit vollständigem Datensatz konnten 17 Patienten der Gruppe Ia und 22 Patienten der Gruppe Ib zugeordnet werden. Die Aufteilung der Patienten anhand der intraoperativen Diagnosen in die Gruppen Ia und Ib ist der Abb. 8 zu entnehmen.

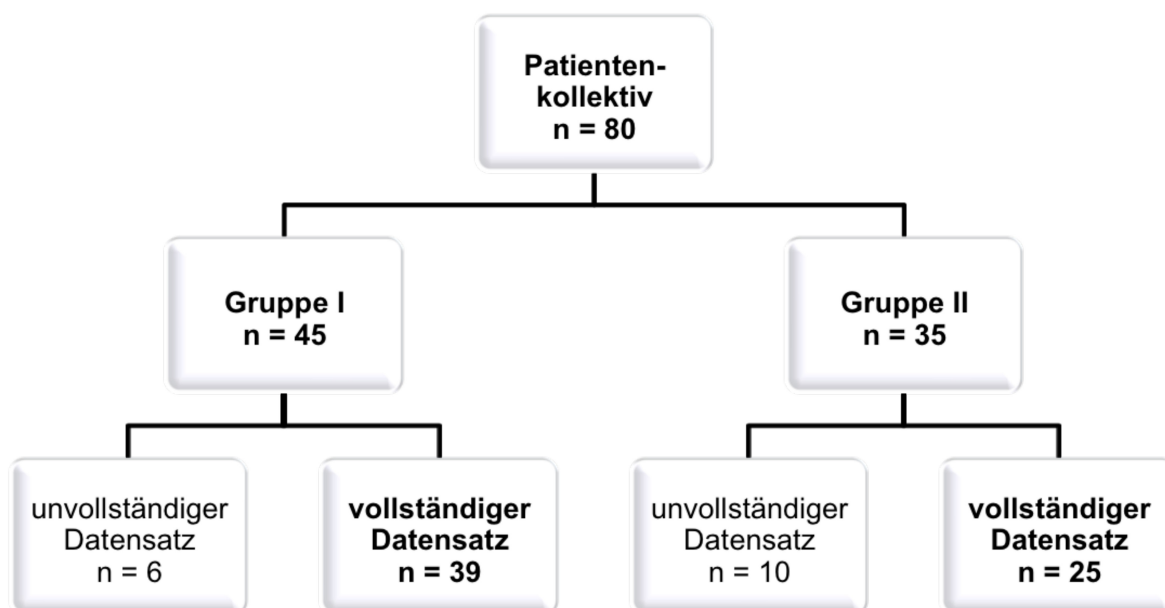


Abbildung 8: Einteilung der Gruppen Ia und Ib (n = number)

Der Anteil der Mädchen in der Gruppe Ia betrug 77% und in der Gruppe Ib 55%; jener der Jungen in der Gruppe Ia 23% und in der Gruppe Ib 45%. Die Verteilung der Geschlechter auf die beiden Gruppen wird in der Tab. 12 dargestellt:

	Gruppe Ia	Gruppe Ib	gesamt
männlich	4	10	14
weiblich	13	12	25
gesamt	17	22	39

Tabelle 12: Verteilung der Geschlechter in den Gruppen Ia und Ib

Hinsichtlich des Alters sowie des BMI gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen; das Gewicht sowie die Körpergröße unterscheiden sich allerdings mit $p = 0,028$ für den Parameter Gewicht und $p = 0,027$ für den Parameter Körpergröße.

Die Mittelwerte sowie die Standardabweichungen der Werte Alter, Gewicht, Körpergröße und BMI zeigt Tab. 13.

	Gruppe Ia		Gruppe Ib		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
Alter (y)	13,2	± 2,3	11,4	± 3,5	0,070
Gewicht (kg)	51,1	± 11,3	41,9	± 14,1	0,028
Körpergröße (cm)	161,7	± 9,8	150,3	± 20,4	0,027
BMI	19,3	± 3,1	18,3	± 2,9	0,293

Tabelle 13: Alter, Körpergröße, Gewicht und BMI der Gruppen Ia und Ib (MW = Mittelwert, SD = Standard Deviation)

Parameteranalyse der Gruppe Ia und Ib

Bei der Analyse der Parameter konnte für alle nicht normalverteilten Parameter (Hepcidin, Leukozyten, CRP, Eisen, T-Sättigung und PAS) ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden (siehe Tab. 14). In der Gruppe der normalverteilten Parameter (Thrombozyten, Transferrin, Ferritin und MPV) wies einzig das Ferritin einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen auf ($p = 0,045$). Tab. 14 stellt die Ergebnisse der Analyse dar.

Parameter	Gruppe Ia		Gruppe Ib		p-Wert
	MW	SD	MW	SD	
PAS	4,8	± 1,6	6,7	± 1,8	0,007
Hepcidin	21,6	± 23,4	38,5	± 17,6	0,001
Leukozyten	9,9	± 3,9	16,7	± 5,1	0,001
Thrombozyten	243,9	± 51,5	284,7	± 71,8	0,055
CRP	14,7	± 26,8	47,1	± 54,4	0,003
Eisen	78,7	± 51,8	29,0	± 19,3	0,001
Transferrin	2,9	± 0,3	2,8	± 0,4	0,389
T-Sättigung	19,5	± 13,0	7,3	± 4,6	0,001
Ferritin	52,5	± 24,8	76,4	± 45,7	0,045
MPV	10,1	± 0,7	9,7	± 0,7	0,162

Tabelle 14: Parameteranalyse der Gruppen Ia und Ib (MW = Mittelwert, SD = Standard Deviation)

3.3. Korrelationen

Um die Beziehungen zwischen den erhobenen Laborwerten untersuchen zu können, wurden sämtliche Variablen mittels Spearman Rangkorrelationskoeffizienten (= KK) miteinander korreliert. Dem Auswerteschema (siehe Tab. 7) folgend konnten für die Zielvariablen Hepcidin (Tab. 15) und PAS (Tab. 16) nur schwache und mittlere, jedoch keine stark linearen Zusammenhänge gefunden werden. Mit den Hepcidinwerten korrelierten mittelstark der PAS, die Leukozytenanzahl, das CRP, der Serumeisenspiegel und die Transferrinsättigung (siehe Tab. 15); mit dem PAS korrelierte mittelstark neben dem Hepcidin die Leukozytenanzahl (siehe Tab. 16).

HEPCIDIN	Korrelationskoeffizient
PAS	0,563
Leukozyten	0,629
CRP	0,646
Eisen	-0,774
Transferrin	-0,377
Transferrinsättigung	-0,735
Ferritin	0,469

Tabelle 15: Korrelationen Hepcidin

PAS	Korrelationskoeffizient
Hepcidin	0,563
Leukozyten	0,594
CRP	0,433
Eisen	-0,424
Transferrinsättigung	-0,370
Ferritin	0,235

Tabelle 16: Korrelationen PAS

Die Korrelationen ($KK \geq 0,5$) für das Hepcidin und den PAS werden in unten stehenden Diagrammen grafisch veranschaulicht:

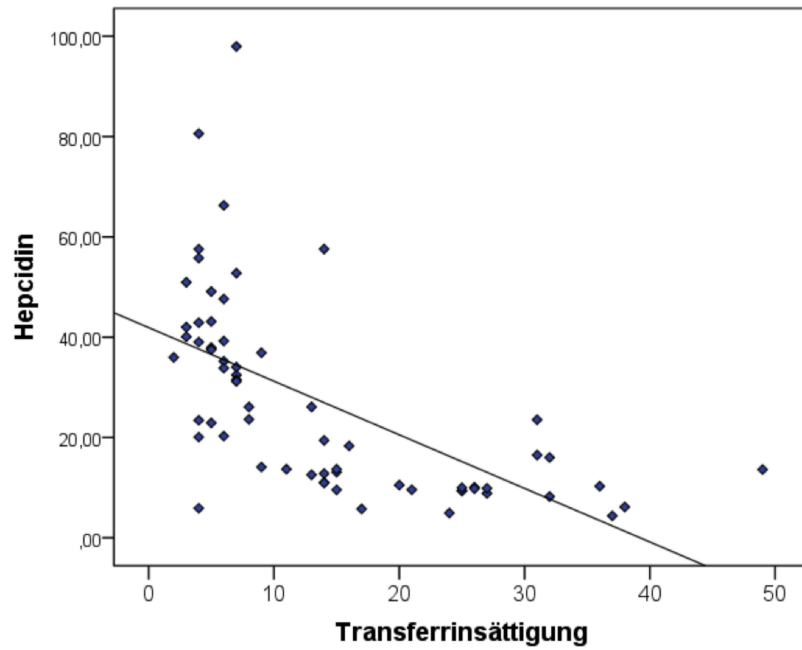


Abbildung 9: Korrelation Hepcidin - Transferrinsättigung
($KK = -0,735$)

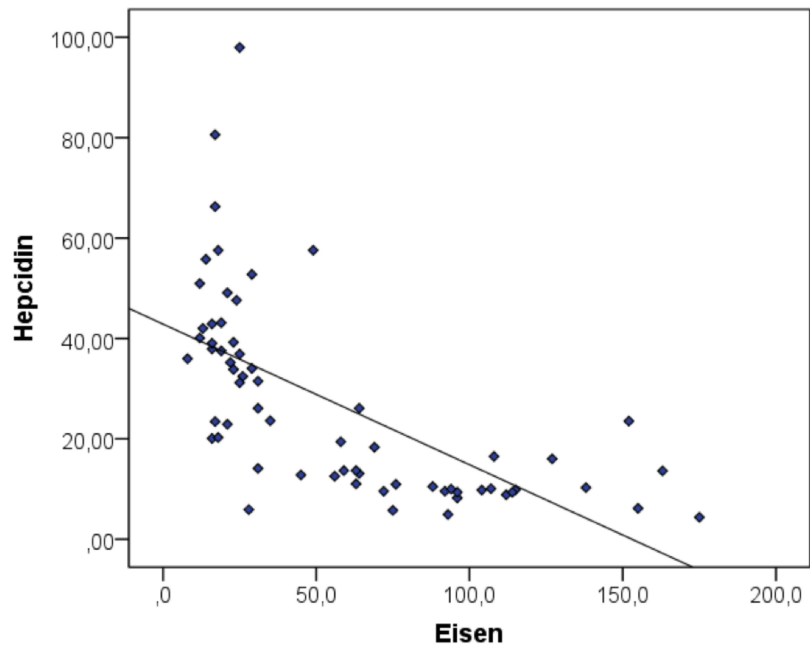


Abbildung 10: Korrelation Hepcidin - Eisen
($KK = -0,774$)

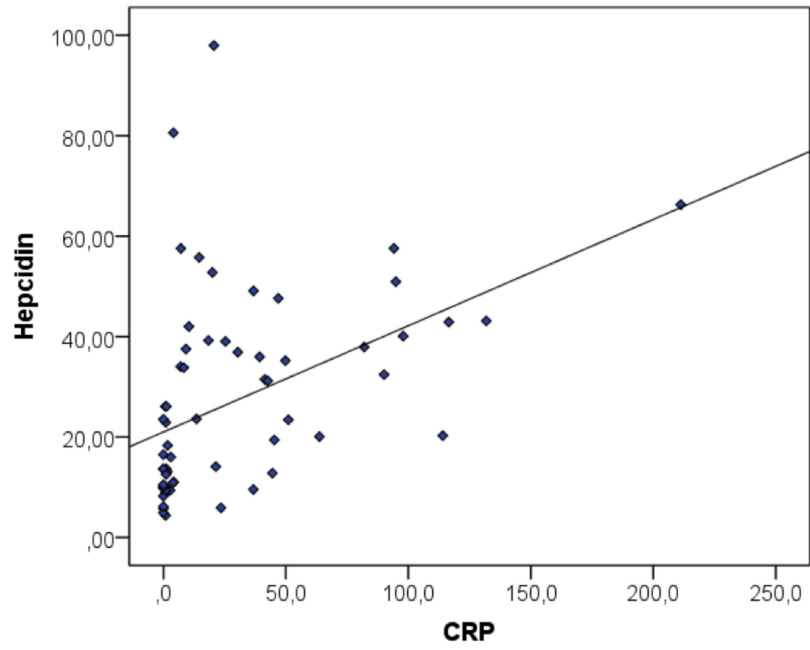


Abbildung 11: Korrelation Hepcidin - CRP
($KK = 0,646$)

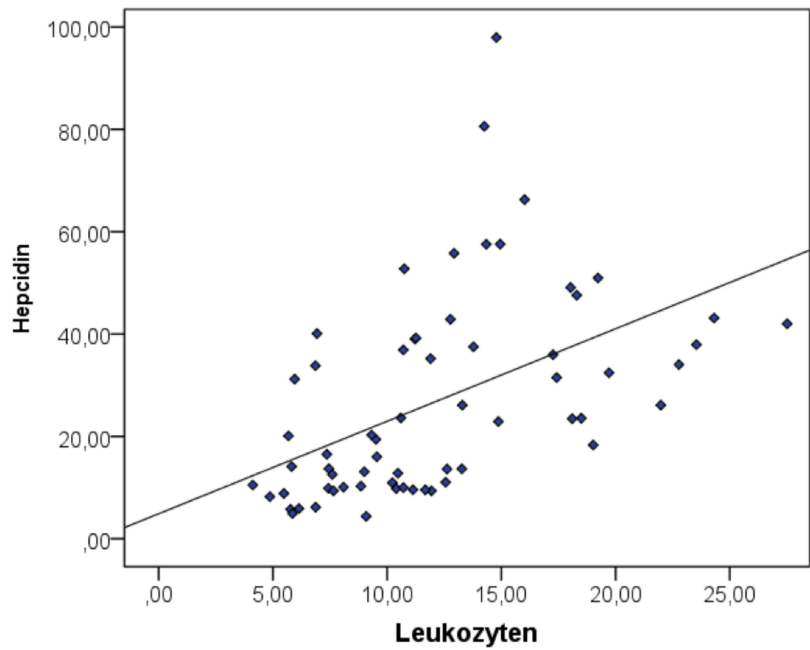


Abbildung 12: Korrelation Hepcidin - Leukozyten
($KK = 0,629$)

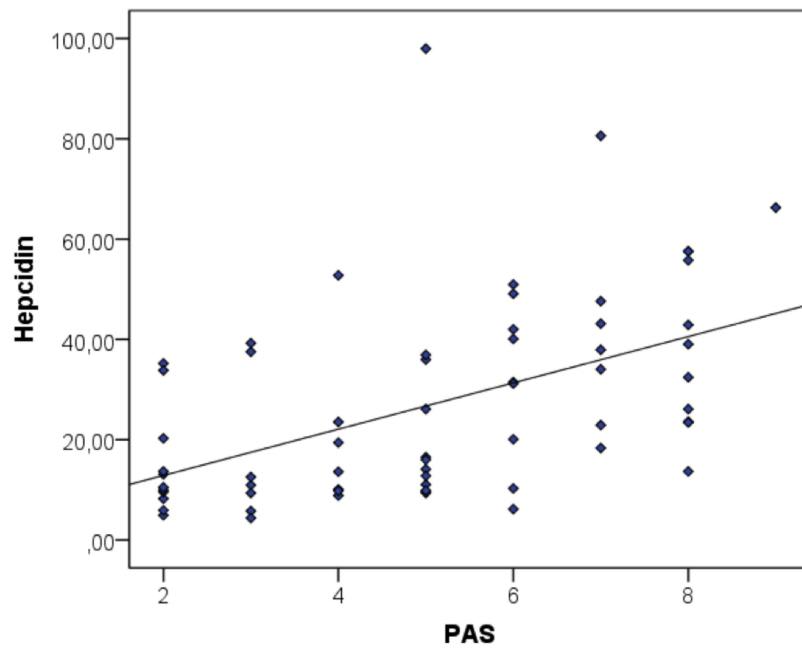


Abbildung 13: Korrelation Hepcidin - PAS
($KK = 0,536$)

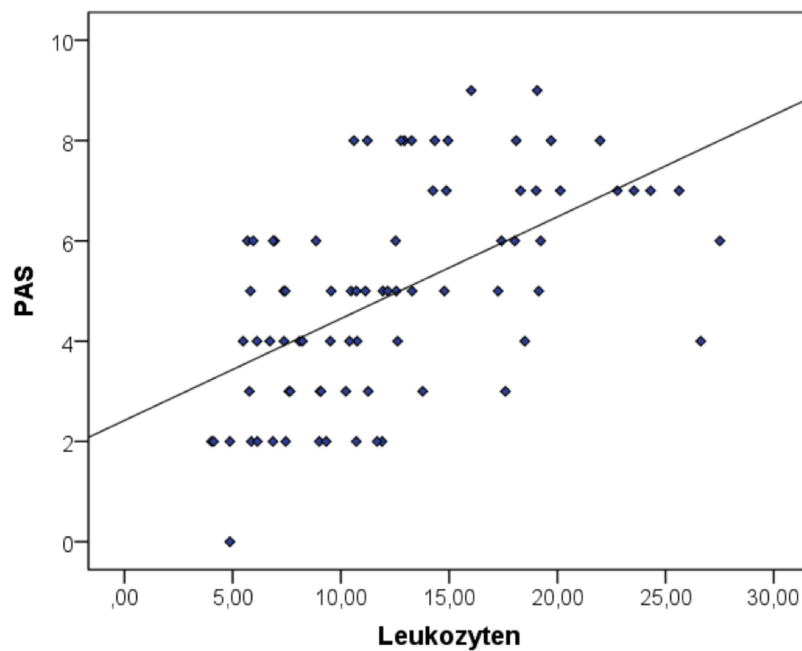


Abbildung 14: Korrelation PAS - Leukozyten
($KK = 0,594$)

Zwischen folgenden Variablen konnten ebenfalls bemerkenswerte Korrelationen ($KK \geq 0,5$) festgestellt werden:

- Thrombozyten und MPV ($KK = 0,592$)
- CRP und Eisen ($KK = 0,774$)
- CRP und Transferrinsättigung ($KK = 0,722$)
- CRP und Ferritin ($KK = 0,552$)
- Eisen und Transferrinsättigung ($KK = 0,969$)
- Ferritin und Transferrin ($KK = 0,587$)

3.4. Validitätsprüfung

Die Verteilungen pathologischer und physiologischer Werte in den einzelnen Gruppen werden in den folgenden Vierfeldertafeln (Tab. 17) dargestellt. Anhand dieser Werte wurden die einzelnen Parameter der Validitätsprüfung errechnet.

CRP	Gruppe I	Gruppe II	FERRITIN	Gruppe I	Gruppe II
normal	16	14	normal	26	18
pathologisch	23	11	pathologisch	13	7

EISEN	Gruppe I	Gruppe II	TZ	Gruppe I	Gruppe II
normal	15	14	normal	38	25
pathologisch	24	11	pathologisch	1	0

TRANSFERRIN	Gruppe I	Gruppe II	LEUKOZYTEN	Gruppe I	Gruppe II
normal	31	19	normal	15	20
pathologisch	8	6	pathologisch	24	5

T-SÄTTIGUNG	Gruppe I	Gruppe II	MPV	Gruppe I	Gruppe II
normal	9	10	normal	24	11
pathologisch	30	15	pathologisch	15	14

Tabelle 17: Vierfeldertafeln normaler und pathologischer Werte der Gruppen I und II (TZ = Thrombozyten, T-Sättigung = Transferrinsättigung, MPV = Mean platelet volume)

Die höchste Sensitivität für das Vorliegen einer Appendizitis wies demnach die Transferrinsättigung mit einem Wert von 77% auf. An zweiter Stelle rangierten der Eisenspiegel und die Leukozytenanzahl; beide mit einer Sensitivität von 62%. Die höchste Spezifität (80%), der höchste PPV (83%) sowie den höchsten NPV (57%) waren ebenfalls der Leukozytenanzahl zuzuordnen.

Eine Gesamtschau aller in dieser Studie untersuchten diagnostischen Parameter für eine akute Appendizitis kann der Tab. 18 entnommen werden.

Parameter	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
CRP	0,59	0,56	0,68	0,47
Eisen	0,62	0,56	0,69	0,48
Transferrin	0,21	0,76	0,57	0,38
Transferrinsättigung	0,77	0,40	0,67	0,53
Ferritin	0,33	0,72	0,65	0,41
Thrombozyten	0,03	1,0	1,0	0,40
Leukozyten	0,62	0,80	0,83	0,57
MPV	0,38	0,56	0,58	0,37

Tabelle 18: Sensitivität, Spezifität, PPV (positive predictive value) und NPV (negative predictive value) für die Gruppen I und II

Etwas anders sehen die Werte der Validitätsprüfung in der zweiten Analysegruppe aus, die auf die richtige Diagnostik einer schweren Appendizitis fokussiert ist. Für deren Berechnungen wurden die Werte der Gruppen Ia und Ib verwendet (siehe nachfolgende Vierfeldertafeln).

CRP	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	11	5
pathologisch	6	1

FERRITIN	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	10	16
pathologisch	7	6

EISEN	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	9	6
pathologisch	8	16

TZ	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	17	21
pathologisch	0	1

TRANSFERRIN	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	16	15
pathologisch	1	7

LEUKOZYTEN	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	11	4
pathologisch	6	18

T-SÄTTIGUNG	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	8	1
pathologisch	9	21

MPV	Gruppe Ia	Gruppe Ib
normal	9	15
pathologisch	8	7

Tabelle 19: Vierfeldertafeln normaler und pathologischer Werte der Gruppen Ia und Ib

Die höchste Sensitivität für das Vorliegen einer schweren Appendizitis ist der Transferrinsättigung (95%) zuzuordnen, die zweithöchste der Leukozytenanzahl (82%) und die dritthöchste dem CRP (77%).

Den höchsten PPV weist der Transferrinspiegel (88%) auf, gefolgt von der Leukozytenanzahl (75%) und dem CRP (74%); der höchste NPV ist mit 89% der Transferrinsättigung zuzuschreiben.

Die Ergebnisse der zweiten Analysegruppe sind in der Tabelle 20 zusammengefasst.

Parameter	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV
CRP	0,77	0,65	0,74	0,69
Eisen	0,73	0,53	0,67	0,60
Transferrin	0,32	0,94	0,88	0,52
T-Sättigung	0,95	0,47	0,70	0,89
Ferritin	0,27	0,59	0,46	0,38
Leukozyten	0,82	0,65	0,75	0,73
Thombozyten	0,05	1,0	1,0	0,45
MPV	0,32	0,53	0,47	0,38

Tabelle 20: Sensitivität, Spezifität, PPV (positive predictive value) und NPV (negative predictive value) für die Gruppen Ia und Ib

3.5. Receiver Operated Characteristics, Area Under the Curve

Um die diagnostische Wertigkeit der im Rahmen dieser Studie erhobenen Parameter im Kontext der AA objektivieren zu können, wurden für jeden Parameter ROC-Analysen durchgeführt und die entstandenen Kurven grafisch dargestellt. Anschließend wurde die Fläche unter der Kurve (area under the curve, AUC) als Gütemaß des jeweiligen Parameters berechnet. Als ideal wird eine AUC von 1 angesehen. Dies würde bedeuten, dass ein Schwellenwert existiert, der säuberlich alle Kranken von den Gesunden trennt. Ein Wert von 0,5 hingegen weist darauf hin, dass der Wert des diagnostische Test nicht höher ist als der einer Zufallsentscheidung für „gesund“ oder „krank“ (67).

Für die Frage nach dem Vorliegen einer AA wiesen folgende Parameter eine AUC $\geq 0,5$ auf: PAS (0,774), Hepcidin (0,654), CRP (0,619) und Ferritin (0,532). Zur Beantwortung dieser Frage erwies sich in unserer Studienpopulation demnach der PAS als bester, wenn auch ob der AUC nicht wirklich zufrieden stellender, Test. Die ROC-Kurven zu diesen Parametern sind in Abbildung 15 dargestellt:

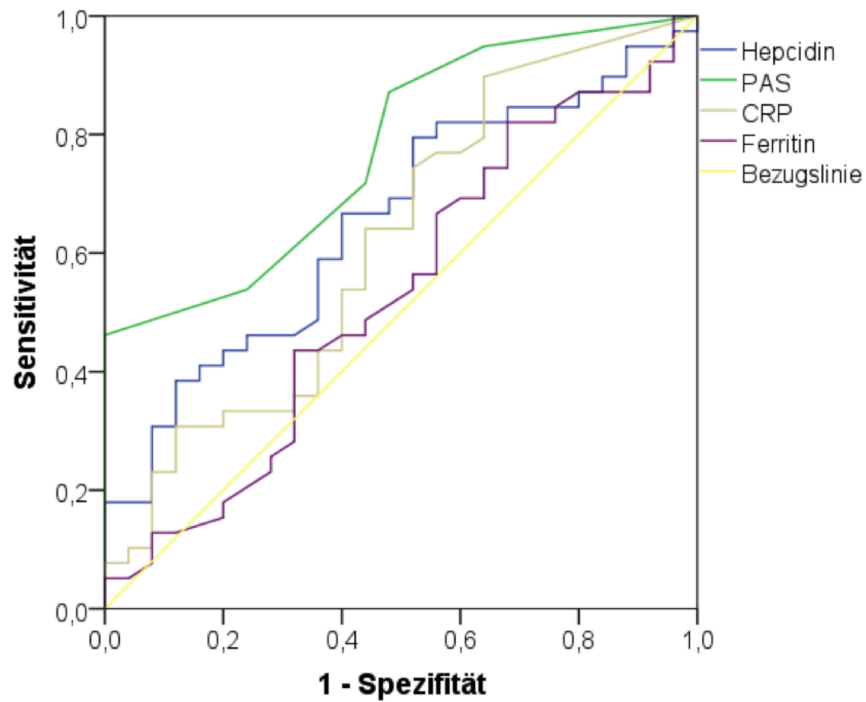


Abbildung 15: ROC-Kurve 1: Liegt eine Appendizitis vor?

Ebenso analysiert wurde die Wertigkeit der Parameter für die Diagnostik einer schweren Appendizitis (siehe Abb. 16). Für folgende Parameter konnte nach Darstellung der ROC-Kurve eine $AUC \geq 0,5$ errechnet werden: Leukozyten (0,861), Hepcidin (0,802), PAS (0,783) sowie CRP (0,761). Interessanterweise übertrafen sowohl die Leukozytenanzahl als auch das Hepcidin den PAS und haben mit einer $AUC \geq 0,8$ eine vergleichsweise hohe Wertigkeit in diesem Kontext.

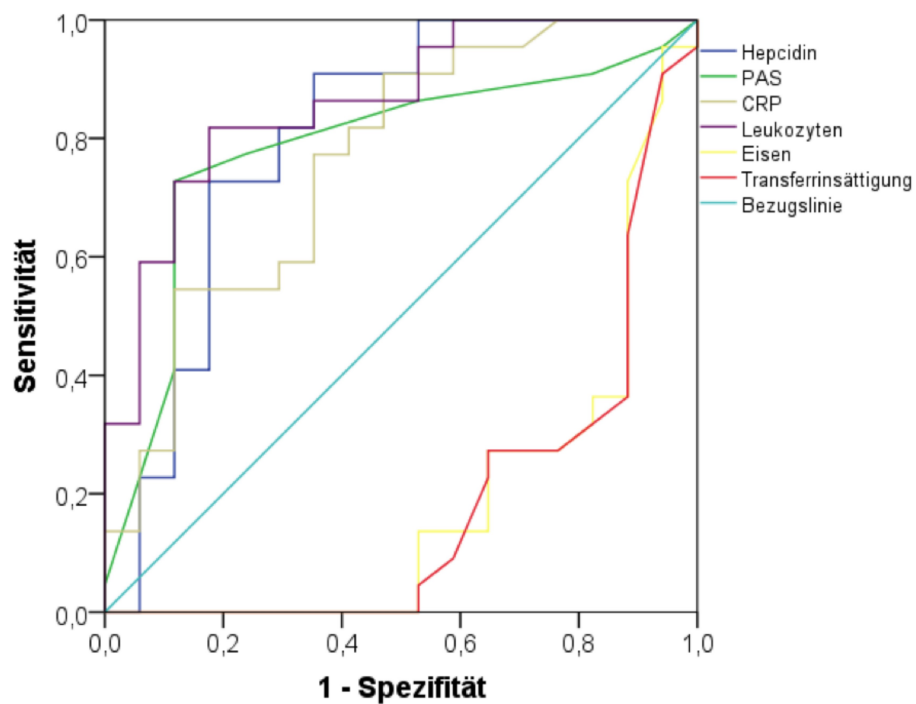


Abbildung 16: ROC-Kurve 2: Liegt eine schwere Appendizitis vor?

4. DISKUSSION

Unseres Wissens nach ist die vorliegende Studie die erste, die einen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer akuten Appendizitis und Veränderungen des Hepcidinspiegels bei Kindern untersucht. Wir konnten darstellen, dass in unserer Studienpopulation Kinder mit histologisch verifizierter Appendizitis signifikant höhere Hepcidinwerte aufweisen als Kinder, die aufgrund akuter abdomineller Beschwerden in unsere Klinik aufgenommen wurden, bei denen jedoch keine akute Appendizitis diagnostiziert werden konnte. Ebenso wiesen Kinder mit einer schweren Appendizitis signifikant höhere Hepcidinwerte auf als Kinder mit einer leichten Appendizitis.

Da die Hepcidinwerte unserer Patientenpopulation nicht in die von anderen Autoren vorgeschlagenen Normwertbereiche fielen (59,62) und so keine Grenzwerte für eine Klassifikation in *normal* oder *pathologisch* erfolgen konnte, war es nicht möglich, Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV Wert für diesen Parameter zu ermitteln. Die Wertigkeit des Hepcidins als diagnostischer Marker konnte allerdings mittels Berechnung der Fläche unter der Kurve (AUC) dargestellt werden. Diese weist für die Fragestellung „Liegt eine Appendizitis vor?“ nur einen Flächenwert von 0,65 auf. Bei der Fragestellung „liegt eine schwere Appendizitis vor?“ rückt die AUC des Hepcidins mit einem Wert von 0,80 allerdings in denselben Wertebereich wie jene der Leukozytenanzahl (0,86), des PAS (0,78) und des CRP (0,76), welche in der routinemäßigen Appendizitisdiagnostik durchaus ihren Stellenwert haben.

Um die in dieser Pilotstudie untersuchte Fragestellung - besonders im Hinblick auf die Sensitivität, die Spezifität, der PPV und der NPV des Hepcidins - besser beantworten zu können, sollten die Normwerte des Hepcidins für verschiedene Altersgruppen in einem breiten, repräsentativen Patientenkollektiv ermittelt werden. Möglichst unabhängig von den in verschiedenen Labors angewandten Messverfahren (ELISA, Massenspektrometrie, etc.) müssen, um eine sinnvolle Interpretation des Hepcidinspiegels beim einzelnen Patienten praktikabel zu machen, klare Grenzwerte für eine Einteilung in *normal* oder *pathologisch* definiert werden.

Bei der Analyse der Laborparameter Leukozytenanzahl, CRP, Eisen, Ferritin, Transferrin, Transferrinsättigung, Thrombozytenanzahl, MPV und des PAS konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen I und II neben dem Hepcidin lediglich für den PAS festgestellt werden. Bei den Gruppen Ia und Ib wurde ein signifikanter Unterschied sowohl für das Hepcidin und den PAS als auch für das CRP, die Leukozytenanzahl, den Eisenspiegel, den Ferritinspiegel, die Transferrinsättigung und das MPV festgestellt. Diese Ergebnisse decken sich bezüglich der Leukozytenanzahl und des CRP auch mit jenen anderer Autoren (23,31,34). Für den Eisenspiegel, das Ferritin und die Transferrinsättigung in diesem Kontext lieferte die Literaturrecherche keine vergleichbaren Daten.

Keiner der ermittelten Werte einzelner Laborparameter oder des PAS konnte in der vorliegenden Studie durch Werte von > 90% für Sensitivität und Spezifität überzeugen. Als Test mit der höchsten Sensitivität für das Vorliegen einer Appendizitis erwies sich die Transferrinsättigung mit einem Wert von 77%. Die höchste Spezifität (80%), den höchsten PPW (83%) und NPW (57%) erreichte die Leukozytenanzahl (Sens. = 82%). Dem entsprechend hat auch die Transferrinsättigung die höchste Sensitivität (95%) für das Vorliegen einer schweren Appendizitis. Bei der Interpretation dieser Aussage ist allerdings zu bedenken, dass es zur Transferrinsättigung in diesem Zusammenhang bisher keine validen Studienergebnisse gibt. In jedem Fall berücksichtigt werden sollten aber die bereits bewährten Parameter Leukozytenanzahl (Sens. = 82%) und CRP (Sens. = 77%), die im nächsten Absatz noch ausführlicher besprochen werden. Diese Parameter werden von Noh et al. sogar als sensitivste Parameter mit einer Sensitivität von 95 % für die Leukozyten und 86% für das CRP für die Diagnostik einer komplizierten Appendizitis beschrieben (23). Vergleichbare Ergebnisse beschreiben auch Kharbanda et al. (35).

Obwohl die Leukozytenanzahl die vermutlich am weitesten verbreitete Entscheidungshilfe in der Diagnostik der akuten Appendizitis bei Kindern ist, darf nicht vergessen werden, dass dieser Wert, wie auch jener des CRP, bei bis zu 8% (in unserer Studie 38,5%) der Kinder mit verifizierter Appendizitis normal sein kann und deshalb erstens nur in Zusammenschau mit der klinischen Symptomatik der Patienten interpretiert, sowie zweitens idealerweise kontinuierlich re-evaluiert

werden sollte (25,68). Die kontinuierliche Reevaluation könnte möglicherweise auch dazu beitragen, die negative Appendektomie-Rate weiter zu senken (69). Die Sensitivität der Leukozytenanzahl in unserer Studie beträgt 82% und fällt damit klar in die in der Literatur beschriebene Spannweite von 70 – 95% (23,69,34,36). Auch die Spezifität von 80% entspricht den Werten anderer Autoren, die zwischen 60 und 91% liegen (69,34,36). Bezüglich der AUC erweist sich die Leukozytenanzahl mit einem Wert von 0,48 allerdings als wenig zufriedenstellend und unterscheidet sich deutlich von den Werten, die andere Autoren (30,34,36) publizierten (Spannweite 0,79 – 0,95).

Die Werte für die Sensitivität des CRP schwanken in der Literatur zwischen 57 und 97%, sodass der von uns errechnete Wert von 59% gerade noch in diesen Bereich fällt. Die Mehrheit der Autoren beschreibt allerdings eine Sensitivität von >80% (23,26,36). Auch die Spezifität von 56% ist vergleichbar mit der aktuellen Literatur (35 – 87%), jedoch eher im unteren Wertebereich angesiedelt (23,26,36,68). Diese Zahlen zeigen, dass eine breite Streuung der Werte in den unterschiedlichen Studien vorliegt, was einmal mehr die Grundproblematik der großen Variabilität einzelner Laborparameter unterstreicht. Ähnliches kann für die AUC des CRP von 0,62 festgestellt werden, deren Werte in der Literatur zwischen 0,63 und 0,75 angegeben werden (26,34,36). Auch bezüglich des CRP könnten serielle Messungen möglicherweise von höherem diagnostischen Wert als Einzelmessungen sein (35).

Die nach Konstruktion der ROC-Kurven errechnete Fläche unter der Kurve für die korrekte Diagnostik einer Appendizitis ist in unserer Studie lediglich für den PAS (AUC = 0,77) größer als 0,70. Dieser Wert ist durchaus vergleichbar mit den Ergebnissen mancher Autoren (39,41). Andere berichten allerdings von deutlich höheren AUC-Werten bis zu 0,95 (43,70). Für die Diagnostik einer schweren Appendizitis erweisen sich jedoch die Leukozytenanzahl (AUC = 0,86) und das Hepcidin (AUC = 0,80) als Tests mit der höchsten Wertigkeit.

Das mittlere Plättchenvolumen als Marker der Appendizitis rückte erst vor wenigen Jahren in den Fokus der Aufmerksamkeit. Die Ergebnisse einer Studie mit Kindern

(Bilic. et al.; Sens. = 87%, Spez. = 54%, AUC = 0,8) (30) konnten in unserer Studie jedoch nicht reproduziert werden (Sens. = 0,38; Spez. = 0,56, AUC < 0,5). Narci et al. veröffentlichten allerdings 2013 eine Studie mit Erwachsenen, deren Ergebnisse mit jenen von Bilic et al. vergleichbar sind (30,36).

Beim Vergleich dieser Studienergebnisse mit jenen anderen Studien muss berücksichtigt werden, dass es teilweise beträchtliche Unterschiede im Studiendesign einzelner Autoren gibt, die einen tatsächlichen Vergleich in einigen Fällen nur bedingt zulassen. Während die Zusammensetzung des Patientenkollektivs einiger Studien bezüglich der Auswahl und Gruppierung der Patienten durchaus mit unserem Studiendesign vergleichbar ist (24,25,69,31,68), beschränkten andere Autoren die Studienteilnahme beispielsweise bezüglich der Schmerzdauer (34,43,70) oder verwendeten in der Kontrollgruppe die Daten beschwerdefreier, gesunder Patienten (30,36,37).

Die Dauer der der klinischen Konsultation an unserer Abteilung vorangehenden Schmerzperiode variierte bei den Kindern mit verifizierter Appendizitis mit einer Spanne von einem bis zu 28 Tagen sehr stark, was die Sinnhaftigkeit des Ausschlusses von Patienten über eine willkürlich festgelegte Schmerzdauer hinaus in Frage stellt. Weiters sollte hinterfragt werden, ob es bezüglich der klinischen Praktikabilität von Studienergebnissen Sinn macht, die Ergebnisse von Kindern mit tatsächlich vorliegender Appendizitis mit jenen von gesunden und beschwerdefreien Kindern zu vergleichen. Unserer Ansicht nach entspricht es eher der Realität klinischer Entscheidungsgrundlagen, Patienten mit ähnlichen Beschwerden, bei denen die Diagnose Appendizitis jedoch eher unwahrscheinlich erscheint, als Kontrollgruppe zu verwenden.

Als Limitation unserer Studie ist anzuführen, dass das zur Auswertung herangezogene Patientenkollektiv mit einer Fallzahl von 64 Patienten trotz gegebener Vergleichbarkeit der Gruppen nicht als repräsentativ angesehen werden kann. Um statistisch relevante Aussagen machen zu können, wäre es erforderlich, dieser Fragestellung in einer Studie mit größerer Fallzahl nachzugehen. Es ist außerdem zu bedenken, dass die Ergebnisse für ein Patientengut von Kliniken mit einem kleineren Einzugsgebiet und ohne integrierte universitäre Forschungseinheit

möglicherweise anders aussehen könnten.

Ebenfalls als Limitation anzuführen ist der Modus der Berechnung des PAS. Im idealen Setting sollte dieser von jenen Ärzten, welche die klinische Untersuchung durchführen, selbst ermittelt werden und nicht retrospektiv anhand der Aufnahmebögen und Arztbriefe. Die Frage, ob ein Einsatz des PAS schon zum Aufnahmezeitpunkt der Patienten zu anderen diagnostischen und therapeutischen Entscheidungen geführt hätte, bleibt somit in dieser Studie offen.

Weiters sollte bedacht werden, dass trotz großer Bemühungen seitens der Autoren dieser Studie möglicherweise nicht alle Kinder, die im Zeitraum der Datensammlung als Studienteilnehmer in Frage gekommen wären, aufgenommen wurden da beispielsweise nicht alle Ärzte bei der Aufnahme an eine mögliche Teilnahme ihrer Patienten dachten bzw. die Ärzte eher bei typischer Symptomatik an eine Studienteilnahme dachten.

Während einzelne Autoren postulieren, dass die klinischen Zeichen der kindlichen Appendizitis die sensitivsten diagnostischen Mittel einer Appendizitis darstellen (25) und die Diagnose oft nur anhand der Klinik gestellt werden könne (69) zeugen zahlreiche Studien, die bildgebende Methoden, Scores oder Laborwerte auf ihre diagnostische Wertigkeit überprüfen, davon, dass trotz großer Fortschritte der medizinischen Wissenschaft in vielen Fällen keine qualitativ hochwertige Diagnostik möglich ist und noch viele Fragen offen sind.

5. SCHLUSSFOLGERUNG

Weder die untersuchten Laborparameter noch der Pediatric Appendicitis Score als klinisches Diagnostikinstrument konnten in unserer Studie zufriedenstellende Ergebnisse bezüglich der Sensitivität und Spezifität sowie der diagnostischen Wertigkeit liefern. Dies unterstreicht einmal mehr die nach wie vor bestehende Herausforderung einer raschen und sicheren Diagnosestellung und die große Relevanz einer innovativen wissenschaftlichen Evaluierung potentieller neuer Biomarker und Scores.

In Zusammenschau mit dem in zahlreichen Studien ermitteltem Wissen über das Hepcidin sowie die Besonderheiten der Appendizitis im Kindesalter sollen die Ergebnisse unserer Studie als Grundlage für die Formulierung neuer Hypothesen und wissenschaftlicher Fragestellungen zu diesem Thema dienen.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Kulik DM, Uleryk EM, Maguire JL. Does this child have appendicitis? A systematic review of clinical prediction rules for children with acute abdominal pain. *J Clin Epidemiol*. 2013 Jan;66(1):95–104.
2. Paajanen H, Somppi E. Early childhood appendicitis is still a difficult diagnosis. *Acta Paediatr*. 1996;85(4):459–62.
3. Leung AK, Sigalet DL. Acute abdominal pain in children. *Am Fam Physician*. 2003;67(11):2321–8.
4. Karakas SP, Guelfguat M, Leonidas JC, Springer S, Singh SP. Acute appendicitis in children: comparison of clinical diagnosis with ultrasound and CT imaging. *Pediatr Radiol*. 2000;30(2):94–8.
5. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *J Biol Chem*. 2001 Mar 16;276(11):7806–10.
6. Young B, Zaritsky J. Heparin for Clinicians. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Aug 1;4(8):1384–7.
7. Ganz T. Heparin and iron regulation, 10 years later. *Blood*. 2011 Apr 28;117(17):4425–33.
8. Nemeth E. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*. 2003 Apr 1;101(7):2461–3.
9. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone heparin. *J Clin Invest*. 2004 May 1;113(9):1271–6.
10. Kemna E. Time-course analysis of heparin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood*. 2005 Sep 1;106(5):1864–6.
11. Yapakçı E, Tarcan A, Çelik B, Özbek N, Gürakan B. Serum pro-heparin levels in term and preterm newborns with sepsis. *Pediatr Int*. 2009 Apr;51(2):289–92.
12. Waldeyer A. Waldeyer - Anatomie des Menschen: Lehrbuch und Atlas in einem Band. Auflage: 19., th totaly rev. ed. Boston: De Gruyter; 2012. 1176 p.
13. Lüllmann-Rauch R. Taschenlehrbuch Histologie. Auflage: 3., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart; New York, NY: Thieme; 2009.
14. Böcker W, Denk H, Heitz PU, Moch H, Höfler. Lehrbuch Pathologie. Auflage: 5. Urban & Fischer; 2012. 1092 p.
15. Dietel M, Suttorp N, Zeitz M. Harrisons Innere Medizin. Auflage: 18., veränd.

- Aufl. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; 2012. 4127 p.
16. Rabah R. Pathology of the appendix in children: an institutional experience and review of the literature. *Pediatr Radiol*. 2007 Jan;37(1):15–20.
 17. Pearl RH, Hale DA, Molloy M, Schutt DC, Jaques DP. Pediatric appendectomy. *J Pediatr Surg*. 1995 Feb;30(2):173–8; discussion 178–181.
 18. Herold G. *Innere Medizin* 2012. Köln: Herold, Gerd; 2011. 966 p.
 19. Westra SJ. The communication of the radiation risk from CT in relation to its clinical benefit in the era of personalized medicine: part 2: benefits versus risk of CT. *Pediatr Radiol*. 2014 Oct;44 Suppl 3:525–33.
 20. Andersson REB. Meta-analysis of the clinical and laboratory diagnosis of appendicitis. *Br J Surg*. 2004 Jan;91(1).
 21. Bundy DG, Byerley JS, Liles EA, Perrin EM, Katznelson J, Rice HE. Does This Child Have Appendicitis? *JAMA* [Internet]. 2007 Jul 25 [cited 2014 Jul 26];298(4). Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.298.4.438>
 22. Lin Y, Lee C. Appendicitis in infancy. *Pediatr Surg Int*. 2003;19(1-2):1–3.
 23. Noh H, Chang S-J, Han A. The diagnostic values of preoperative laboratory markers in children with complicated appendicitis. *J Korean Surg Soc*. 2012;83(4):237.
 24. Grönroos JM. Do normal leucocyte count and C-reactive protein value exclude acute appendicitis in children? *Acta Paediatr*. 2001;90(6):649–51.
 25. Sack U, Biereder B, Elouahidi T, Bauer K, Keller T, Tröbs R-B. Diagnostic value of blood inflammatory markers for detection of acute appendicitis in children. *BMC Surg*. 2006;6(1):15.
 26. Yu C-W, Juan L-I, Wu M-H, Shen C-J, Wu J-Y, Lee C-C. Systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of procalcitonin, C-reactive protein and white blood cell count for suspected acute appendicitis. *Br J Surg*. 2013 Feb;100(3):322–9.
 27. Muller B, Becker KL. Procalcitonin: how a hormone became a marker and mediator of sepsis. *Swiss Med Wkly*. 2001 Oct 20;131(41-42).
 28. Fernandez Lopez A, Luaces Cubells C, Garcia Garcia JJ, Fernandez Pou J. Procalcitonin in pediatric emergency departments for the early diagnosis of invasive bacterial infections in febrile infants: results of a multicenter study and utility of a rapid qualitative test for this marker. *Pediatr Infect Dis J*. 2003 Oct;22(10).
 29. Chandel V, Batt SH, Bhat MY, Kawoosa NU, Yousuf A, Zargar BR.

- Procalcitonin as the Biomarker of Inflammation in Diagnosis of Appendicitis in Pediatric Patients and Prevention of Unnecessary Appendectomies. *Indian J Surg*. 2011 Apr;73(2):136–41.
30. Bilici S, Sekmenli T, Göksu M, Melek M, Avci V. Mean platelet volume in diagnosis of acute appendicitis in children. *Afr Health Sci* [Internet]. 2011 [cited 2014 Jul 26]; 11(3). Available from: <http://www.ajol.info/index.php/ahs/article/view/73409>
 31. Kharbanda AB, Cosme Y, Liu K, Spitalnik SL, Dayan PS. Discriminative Accuracy of Novel and Traditional Biomarkers in Children With Suspected Appendicitis Adjusted for Duration of Abdominal Pain: TEMPORAL CHANGES IN BIOMARKERS FOR APPENDICITIS. *Acad Emerg Med*. 2011 Jun;18(6):567–74.
 32. Goodwin AT, Swift RI, Bartlett MJ, Fernando BS, Chadwick SJ. Can serum interleukin-6 levels predict the outcome of patients with right iliac fossa pain? *Ann R Coll Surg Engl*. 1997;79(2):130.
 33. Lycopoulou L, Mamoulakis C, Hantzi E, Demetriadis D, Antypas S, Giannaki M, et al. Serum amyloid A protein levels as a possible aid in the diagnosis of acute appendicitis in children. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2005 Jan 1 [cited 2014 Jul 26]; 43(1). Available from: <http://www.degruyter.com/view/j/cclm.2005.43.issue1/cclm.2005.007/cclm.2005.007.xml>
 34. Schellekens DHSM, Hulsewé KWE, van Acker BAC, van Bijnen AA, de Jaegere TMH, Sastrowijoto SH, et al. Evaluation of the Diagnostic Accuracy of Plasma Markers for Early Diagnosis in Patients Suspected for Acute Appendicitis. Lewis L, editor. *Acad Emerg Med*. 2013 Jul;20(7):703–10.
 35. Kharbanda AB, Rai AJ, Cosme Y, Liu K, Dayan PS. Novel Serum and Urine Markers for Pediatric Appendicitis: NOVEL BIOMARKERS FOR APPENDICITIS IN CHILDREN. *Acad Emerg Med*. 2012 Jan;19(1):56–62.
 36. Narci H, Turk E, Karagulle E, Togan T, Karabulut K. The role of mean platelet volume in the diagnosis of acute appendicitis: a retrospective case-controlled study. *Iran Red Crescent Med J*. 2013 Dec;15(12):e11934.
 37. Uyanik B, Kavalci C, Arslan ED, Yilmaz F, Aslan O, Dede S, et al. Role of mean platelet volume in diagnosis of childhood acute appendicitis. *Emerg Med Int*. 2012;2012:823095.
 38. Feng S, Wu P, Chen X. Hyperfibrinogenemia in appendicitis: a new predictor of perforation in children. *Pediatr Surg Int*. 2014 Nov;30(11):1143–7.
 39. Schneider C, Kharbanda A, Bachur R. Evaluating Appendicitis Scoring Systems Using a Prospective Pediatric Cohort. *Ann Emerg Med*. 2007 Jun;49(6):778–784.e1.

40. Andersson RE. The magic of an appendicitis score. *World J Surg.* 2015 Jan;39(1):110–1.
41. Samuel M. Pediatric appendicitis score. *J Pediatr Surg.* 2002 Jun;37(6):877–81.
42. Adibe OO, Muensterer OJ, Georgeson KE, Harmon CM. Severity of appendicitis correlates with the pediatric appendicitis score. *Pediatr Surg Int.* 2011 Jun;27(6):655–8.
43. Goldman RD, Carter S, Stephens D, Antoon R, Mounstephen W, Langer JC. Prospective Validation of the Pediatric Appendicitis Score. *J Pediatr.* 2008 Aug;153(2):278–82.
44. De Castro SMM, Ünlü ç., Steller EP, van Wagensveld BA, Vrouwenraets BC. Evaluation of the Appendicitis Inflammatory Response Score for Patients with Acute Appendicitis. *World J Surg.* 2012 Jul;36(7):1540–5.
45. Ohle R, O'Reilly F, O'Brien KK, Fahey T, Dimitrov BD. The Alvarado score for predicting acute appendicitis: a systematic review. *BMC Med.* 2011;9.
46. Emil S, Laberge J-M, Mikhail P, Baican L, Flageole H, Nguyen L, et al. Appendicitis in children: a ten-year update of therapeutic recommendations. *J Pediatr Surg.* 2003 Feb;38(2):236–42.
47. Omundsen M, Dennett E. Delay to appendectomy and associated morbidity: a retrospective review. *ANZ J Surg.* 2006 Mar;76(3):153–5.
48. Lee SL, Yaghoubian A, Kaji A. Laparoscopic vs open appendectomy in children: outcomes comparison based on age, sex, and perforation status. *Arch Surg Chic Ill 1960.* 2011 Oct;146(10):1118–21.
49. Tian Y, Wu S-D, Chen Y-H, Wang D-B. Transvaginal laparoscopic appendectomy simultaneously with vaginal hysterectomy: initial experience of 10 cases. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2014;20:1897–901.
50. Lentze MJ, Schaub J, Schulte F-J, Spranger J. *Pädiatrie: Grundlagen und Praxis.* Auflage: 3., vollst. überarb. u. erw. Aufl. 2007. Heidelberg: Springer; 2007. 1949 p.
51. Dingemann J, Metzelder ML, Szavay PO. Current status of laparoscopic appendectomy in children: a nation wide survey in Germany. *Eur J Pediatr Surg Off J Austrian Assoc Pediatr Surg Al Z Kinderchir.* 2013 Jun;23(3):226–33.
52. Nicolae CD, Coman OA, Ene C, Nicolae I, Fulga I. Hepcidin in neoplastic disease. *J Med Life.* 2013 Sep 15;6(3):355–60.
53. Koenig MD, Tussing-Humphreys L, Day J, Cadwell B, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis during pregnancy. *Nutrients.* 2014 Aug;6(8):3062–83.

54. Clark RJ, Tan CC, Preza GC, Nemeth E, Ganz T, Craik DJ. Understanding the Structure/Activity Relationships of the Iron Regulatory Peptide Heparin. *Chem Biol.* 2011 Mar;18(3):336–43.
55. Van Eijk L, Kroot JJ, Tromp M, van der Hoeven JG, Swinkels DW, Pickkers P. Heparin as. *Heparin Anal Harmon Clin Util.* 2011;103.
56. Nemeth E. Heparin biology and therapeutic applications. *Expert Rev Hematol.* 2010 Apr;3(2):153–5.
57. Shanmugam NKN, Trebicka E, Fu L-L, Shi HN, Cherayil BJ. Intestinal inflammation modulates expression of the iron-regulating hormone heparin depending on erythropoietic activity and the commensal microbiota. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2014 Aug 1;193(3):1398–407.
58. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab.* 2005 Mar;1(3).
59. Sham RL, Phatak PD, Nemeth E, Ganz T. Hereditary hemochromatosis due to resistance to heparin: high heparin concentrations in a family with C326S ferroportin mutation. *Blood.* 2009 Jul 9;114(2):493–4.
60. Cangemi G, Pistorio A, Miano M, Gattorno M, Aquila M, Bicocchi MP, et al. Diagnostic potential of heparin testing in pediatrics. *Eur J Haematol.* 2013 Apr;90(4):323–30.
61. Sdogou T, Tsentidis C, Gourgiotis D, Marmarinos A, Gkourogianni A, Papassotiriou I, et al. Immunoassay-Based Serum Heparin Reference Range Measurements in Healthy Children: Differences Among Age Groups. *J Clin Lab Anal.* 2014 Mar 22;
62. Uijterschout L, Swinkels DW, Domellöf M, Lagerqvist C, Hudig C, Tjalsma H, et al. Serum heparin measured by immunochemical and mass-spectrometric methods and their correlation with iron status indicators in healthy children aged 0.5-3 y. *Pediatr Res.* 2014 Oct;76(4):409–14.
63. Atkinson MA, White CT. Heparin in anemia of chronic kidney disease: review for the pediatric nephrologist. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2012 Jan;27(1):33–40.
64. Atkinson MA, Kim JY, Roy CN, Warady BA, White CT, Furth SL. Heparin and risk of anemia in CKD: a cross-sectional and longitudinal analysis in the CKiD cohort. *Pediatr Nephrol Berl Ger.* 2014 Nov 8;
65. Bregman DB, Morris D, Koch TA, He A, Goodnough LT. Heparin levels predict nonresponsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency anemia. *Am J Hematol.* 2013 Feb;88(2).
66. Kossiva L, Soldatou A, Gourgiotis DI, Stamati L, Tsentidis C. Serum heparin: indication of its role as an “acute phase” marker in febrile children. *Ital J*

Pediatr. 2013;39(1):25.

67. Weiß C. Basiswissen Medizinische Statistik [Internet]. Berlin [u.a.]: Springer Medizin Verlag Heidelberg; 2005 [cited 2015 Jan 17]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/3-540-28549-0>
68. Groselj-Grenc M, Repse S, Vidmar D, Derganc M. Clinical and laboratory methods in diagnosis of acute appendicitis in children. *Croat Med J.* 2007;48(3):353.
69. Bates MF, Khander A, Steigman SA, Tracy TF, Luks FI. Use of White Blood Cell Count and Negative Appendectomy Rate. *PEDIATRICS.* 2014 Jan 1;133(1):e39–e44.
70. Bhatt M, Joseph L, Ducharme FM, Dougherty G, McGillivray D. Prospective Validation of the Pediatric Appendicitis Score in a Canadian Pediatric Emergency Department. *Acad Emerg Med.* 2009 Jul;16(7):591–6.
71. Platzer W, Fritsch H, Kühnel W, Leonhardt H, Kahle W, Frotscher M, et al. *Taschenatlas Anatomie: in 3 Bänden.* Stuttgart: Thieme; 2013.