

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

DISSERTATION

**Einfluss der prophylaktischen Gabe von Faktor XIII auf die Wundheilung nach
Neck Dissection bei Patienten mit chronischem Alkoholkonsum**

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von
Marie Christine Asmussen

aus
Lübeck

Datum der Promotion: 05.06.2016

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	III
TABELLENVERZEICHNIS	IV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	V
1 ZUSAMMENFASSUNG	1
2 ABSTRACT	3
3 EINLEITUNG	4
3.1 Neck Dissection	5
3.2 Wundheilung	5
3.3 Einfluss von Faktor XIII auf die Wundheilung	7
3.4 Einfluss des spezifischen Immunsystems auf die Wundheilung	8
3.5 Herleitung der Fragestellung	10
3.5.1 Hypothese	10
3.5.2 Fragestellung	10
3.5.3 Nachgeordnete Fragestellungen	10
4 MATERIAL UND METHODEN.....	11
4.1 Studienprotokoll	11
4.1.1 Einschlusskriterien	12
4.1.2 Ausschlusskriterien	12
4.1.3 Individuelle Abbruchkriterien	12
4.1.4 Gruppenteilung.....	13
4.2 Fibrogammin®	13
4.3 Studienablauf	14
4.4 Laborparameter	15

4.5	Statistische Analyse	17
5	ERGEBNISSE	18
5.1	Basisdaten des Patientenkollektivs	18
5.2	Postoperative Wundheilungsstörungen	22
5.2.1	Hämatome und Serome	23
5.2.2	Wunddehiszenzen.....	24
5.3	Immunparameter	25
5.3.1	Leukozyten und deren Subpopulationen.....	25
5.3.2	Marker für T-Zell-Aktivierung.....	28
5.4	Krankenhausverweildauer bei Wundheilungsstörung	30
6	DISKUSSION	32
6.1	Vergleichbarkeit der Patientengruppen	32
6.2	Faktor XIII: positiver Einfluss auf die Wundheilung	33
6.2.1	Faktor XIII vermindert das Auftreten von Hämatomen und Seromen..	34
6.2.2	Faktor XIII, Wunddehiszenzen und -infekte	36
6.3	Perioperative Immunparameter	37
6.3.1	Faktor XIII verbessert postoperative Entzündungsreaktion.....	38
6.3.2	FXIII vermindert Immunsuppression	39
6.4	Wundheilungsstörungen verlängern Krankenhausverweildauer	40
6.5	Limitationen der Studie	41
6.6	Ausblick	42
7	LITERATURVERZEICHNIS	43
8	LEBENS LAUF	49
9	DANKSAGUNG	50
10	ERKLÄRUNG	51

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Zervikale Lymphknotenlevel.	5
Abbildung 2: Studienverlauf.....	15
Abbildung 3: Übersicht Unterteilung der Wundheilungsstörungen.....	23
Abbildung 4: CRP	25
Abbildung 5: Leukozyten	26
Abbildung 6: Lymphozyten (absolut)	27
Abbildung 7: T-Zellen (absolut).....	27
Abbildung 8: CD16 positive NK-Zellen	28
Abbildung 9: sIL-2-R im Verlauf.....	29
Abbildung 10: HLA-DR positive der CD8 positiven T–Zellen	30
Abbildung 11: Krankenhausverweildauer und Wundheilungsstörungen.....	31

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Basisdaten	19
Tabelle 2: Übersicht der Risikofaktoren für Wundheilungsstörungen	20
Tabelle 3: Übersicht Operationen	21
Tabelle 4: Übersicht Wundheilungsstörungen	22

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AK	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUD	Alcohol Use Disorder
AUDIT	Alcohol Use Disorders Identifikation Test
BD	Becton Dickinson GmbH
BE	Blutentnahme
BGA	Blutgasanalyse
CCM	Campus Charité Mitte
CD	Cluster of Differentiation
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CDT	Kohlenhydrat-defizientes Transferrin
CRF	Case Record Form
CRP	C-reaktives Protein
CUP	Cancer of Unknown Primary
CVK	Campus Virchow-Klinikum
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK	Erythrozytenkonzentrat
FFP	Fresh Frozen Plasma
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
FXIII	Faktor XIII
GCP	Good Clinical Practice
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
HLA-DR	humanes Leukozyten-Antigen-D-Related
HNO	Hals-Nasen-Ohren
IE	Internationale Einheiten
ILP	Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie
INR	International Normalized Ratio
IQR	Interquartilsabstand
MCV	mittleres korpuskuläres Volumen
Med	Median

Mittel	Mittelwert
MKG	Mund-Kiefer-Gesicht
NaCl	Natriumchlorid
NK	natürliche Killer (-zellen)
NSAR	Nicht-Steroidales-Antirheumatikum
PE	Phycoerythrin
POD	Postoperative Day
PPT	Partial Thromboplastin Time
sIL2-R	löslicher Interleukin-2-Rezeptor
TNM	Tumor Node Metastasis
TPZ	Thromboplastinzeit

1 ZUSAMMENFASSUNG

Wundheilungsstörungen sind bei Patienten mit chronischem Alkoholkonsum und Neck Dissection eine häufige postoperative Komplikation. Sie lassen sich in Hämatome, Serome, Wunddehiszenzen und Wundinfektionen aufgliedern. Für die Wundheilung sind die Blutgerinnung, eine adäquate Immunantwort und die Wiederherstellung des Gewebes wichtig. Faktor XIII (FXIII), fibrinstabilisierender Faktor, stabilisiert auch Kollagen und fördert unter anderem Fibroblasten und die Angiogenese. Er kann bei Patienten mit hohem Alkoholkonsum vermindert sein.

In dieser Pilotstudie wurde der Einfluss von prophylaktischer FXIII-Gabe bei Patienten mit chronischem Alkoholkonsum und Neck Dissection auf die Rate an Wundheilungsstörungen untersucht. Auch die Immunantwort in Form von Leukozyten (natürliche Killer (NK)- und T-Zellen), C-reaktives Protein (CRP), sowie die Krankenhausverweildauer dieser Patienten wurden beobachtet.

Es wurden 23 Patienten mit mindestens 60 g Alkoholkonsum pro Tag doppelblind randomisiert in die FXIII- oder Placebogruppe eingeschlossen. Präoperativ erfolgte eine Evaluation des Alkoholeinflusses mittels Blutentnahme und Alcohol Use Disorders Identifikation Test (AUDIT). Bis zum 3. postoperativen Tag wurde fünfmal Fibrogammin® oder Placebo gegeben. Gerinnungsparameter, CRP und ein Differentialblutbild wurden insgesamt sechsmal bis zum 10. postoperativen Tag abgenommen. Es wurden auch Lymphozytensubpopulationen (Cluster of Differentiation (CD) 8 positive Zellen, NK-Zellen), humane Leukozyten-Antigen-D-Related (HLA-DR)- und CD57-T-Zell-Aktivierung und löslicher Interleukin-2-Rezeptor bestimmt. Wundinfektionen wurden nach den Definitionen nosokomialer Infektionen des Robert Koch Instituts erfasst.

Die Studie hat gezeigt, dass eine prophylaktische FXIII-Gabe Hämatome und Serome potenziell verhindert ($p = 0,093$). Das Auftreten von Wunddehiszenzen und –infektionen war möglicher Weise durch FXIII beeinflusst. Immunologisch konnte ein tendenzieller Anstieg der Leukozyten in der Studiengruppe am ersten postoperativen Tag nachgewiesen werden ($p = 0,051$). NK-Zellen zeigten sich in der Studiengruppe am vierten postoperativen Tag tendenziell stärker aktiviert ($p = 0,05$). Die Krankenhausverweildauer wurde durch das Auftreten von Wundheilungsstörungen tendenziell verlängert ($p = 0,05$).

Zusammenfassung

Die Rolle von FXIII in der Wundheilung ist komplex und noch nicht vollständig verstanden. Zur Klärung des Einflusses von FXIII auf Wundheilungsstörungen ist insbesondere bei Patienten mit chronischem Alkoholkonsum weiterer Forschungsbedarf gegeben.

2 ABSTRACT

Wound healing disorders are a common complication in patients with Alcohol Use Disorder (AUD) after neck dissection. They can be differentiated into haematomas, seromas, wound dehiscences and wound infections. Important for wound healing are blood coagulation, an adequate immune response and tissue reformation. Factor XIII (FXIII) stabilises fibrin as well as collagene and supports fibroblasts and angiogenesis amongst others. Patients with AUD probably have a reduced level of FXIII.

In this study we analysed the effect of prophylactic FXIII administration on wound healing in patients with AUD after neck dissection. We measured the wound healing disorder frequency as well as immune parameters like leucocytes (Natural Killer (NK) cells, T-lymphocytes), C-reactive protein (CRP) and the length of hospital stay.

For this double-blind pilot study 23 patients with more than 60 g intake of alcohol per day were randomized into FXIII and placebo group. The influence of alcohol was measured preoperatively by taking blood samples and performing the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT). Until the third postoperative day Fibrogammin® or placebo were given five times. All together blood samples were taken six times until the tenth postoperative day. Blood samples were used to determine coagulation parameters, CRP, differential blood counts, lymphocyte subpopulations (Cluster of Differentiation (CD) 8 positive cells, NK cells), T-cell-activation (Human Leucocyte Antigen-D-Related (HLA-DR) and CD57) and soluble interleukin-2-receptor. Wound infection was defined according to the Centers for Disease Control and Prevention criteria.

The data suggests that prophylactic FXIII administration may reduce hematoma and seroma ($p = 0.093$). The incidence for wound dehiscences and wound infections might be influenced by FXIII. Leucocytes tend to be more numerous in the FXIII group on postoperative day one ($p = 0.051$) and NK cells on postoperative day four ($p = 0.05$). The length of hospital stay tends to be prolonged by the occurrence of wound healing disorders ($p = 0.05$).

The role of FXIII in wound healing is complex and not yet fully understood. Especially in the context of patients with AUD further research is needed.

3 EINLEITUNG

Bei Patienten mit chronischem Alkoholkonsum bzw. Alcohol Use Disorder (AUD) zählen Wundheilungsstörungen neben Pneumonie und Herz Kreislaufschwäche zu den häufigsten postoperativen Komplikationen [1]. Insbesondere das Risiko für postoperative Infektionen ist bei AUD bis zu vierfach erhöht [2] und wird durch die Beeinflussung des Immunsystems begünstigt [3, 4]. Das Risiko für postoperative Wundinfektion wird durch einen additiv bestehenden Nikotinkonsum noch erhöht [2, 5]. Wundheilungsstörungen stellen bei Patienten, die sich Operationen von oropharyngealen Tumoren unterziehen, die häufigste postoperative Komplikation dar [6].

Bei 7 bis 49 % der Patienten, die in operativen Kliniken in Europa behandelt werden, konnte ein erhöhter Alkoholkonsum festgestellt werden. Welche genauen Mengen sich perioperativ nachteilig auswirken, ist schwer ermittelbar, es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass ab 60 g pro Tag das Risiko für perioperative Komplikationen ansteigt [7]. Patienten mit AUD erkranken häufiger an Tumoren im Hals-Nasen-Ohren (HNO)-Gebiet. Nach einer europäischen Studie besteht in Deutschland bei 47 % der Männer und bei 35 % der Frauen ein Zusammenhang mit Alkohol bei Tumoren im oberen Aerodigestivtrakt [8]. Durch eine erhöhte Rate an Komplikationen steigt die Mortalität und verlängert sich die Krankenhausverweildauer signifikant [9].

Ein wichtiger Faktor für die Blutgerinnung, den postoperativen Wundverschluss und damit die Wundheilung ist der Fibrin-stabilisierende Faktor, Faktor XIII (FXIII) [10]. Der FXIII-Spiegel kann bei Patienten mit AUD durch eine alkoholtoxische Schädigung der Leber vermindert sein [11]. Ursächlich kommt eine eingeschränkte Syntheseleistung der B-Untereinheit des FXIII in der Leber in Frage, welche einen reduzierten FXIII-Spiegel im Blut begünstigen kann [12]. Es wurde eine verminderte Aktivität von FXIII bei Patienten mit Leberzirrhose gezeigt [13]. *In vitro* ergaben sich zudem Hinweise, dass FXIII durch Acetaldehyd, das beim Alkoholabbau entsteht, direkt gehemmt wird [14]. Es wurde bei einem hinsichtlich AUD unselektierten Patientenkollektiv gezeigt, dass nach Operation und schwerer perioperativer Blutung die FXIII-Werte erniedrigt sind [15-17]. Patienten mit AUD können bei Operationen demnach einen besonders ausgeprägten FXIII-Mangel entwickeln.

3.1 Neck Dissection

Die Neck Dissection wird bei Tumoren des oberen Gastrointestinaltraktes seit vielen Jahren routinemäßig zur Entfernung der Halslymphknoten durchgeführt [18]. Die Lymphknoten am Hals werden nach dem „Committee for Neck Dissection“ der „American Head and Neck Society“ in Level von I bis VI eingeteilt (siehe Abbildung 1). Bei Tumormetastasen wird eine radikale Neck Dissection durchgeführt, bei der die Level I-V ausgeräumt werden. Werden anatomische Strukturen, wie der Nervus accessorius, die Vena jugularis interna oder der Musculus sternocleidomastoideus ausgespart, wird die Neck Dissection radikal-modifiziert genannt. Eine weitere Abwandlung stellt die funktionell selektive Neck Dissection dar, bei der nur ausgewählte Level, zum Beispiel II-IV, ausgeräumt werden [19].

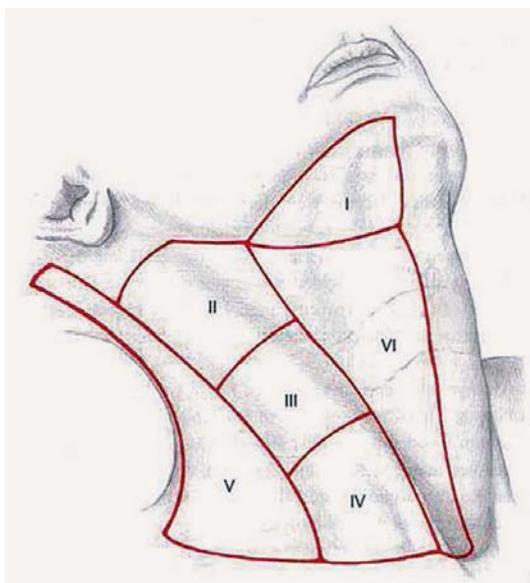


Abbildung 1: Zervikale Lymphknotenlevel. nach dem „American Joint Committee on Cancer“ (entspricht der des „Committee for Neck Dissection“ der „American Head and Neck Society“) [20].

3.2 Wundheilung

Bei der normalen Wundheilung werden drei Phasen unterschieden. Zunächst stehen in der Exsudationsphase Blutgerinnung und Entzündung im Vordergrund. Leukozyten (neutrophile Granulozyten und Makrophagen) reinigen die Wunde von Zelltrümmern und Keimen. Die Angiogenese wird induziert. Im katabolen Gewebe bildet sich eine Azidose bis ungefähr am dritten Tag nach Wundentstehung durch Gefäßproliferation wieder eine bessere Blutversorgung vorliegt. In der folgenden Proliferationsphase wird

Kollagen gebildet. Die Wunde kontrahiert und epithelisiert sich. Innerhalb von sechs Tagen nimmt die Zahl der phagozytierenden Zellen ab. Fibroblasten proliferieren und von den Wundrändern her migrieren Epithelzellen. Letztlich folgt ungefähr ab dem zehnten Tag nach Wundentstehung eine Reparationsphase, die bis zu einem Jahr andauert. Zell-, und Kapillargehalt nehmen zugunsten des Kollagenanteils wieder ab, bis die mechanische Stabilität des Gewebes dem unversehrten gleicht. Es bildet sich eine Narbe. Die Phasen müssen nicht zwangsläufig nacheinander ablaufen [21, 24].

Wundheilungsstörungen sind meist multifaktoriell bedingt. Es kommen sowohl lokale als auch systemische Ursachen in Frage. Lokal spielen Gerinnungsstörungen, hämodynamische Störungen, Infektionen, vorangegangene Strahlentherapie des Gebiets und Fremdmaterialien eine Rolle. Komorbiditäten wie Diabetes mellitus, Adipositas, Alkoholkonsum, Rauchen, Tumorerkrankungen, Urämie, Ikterus oder das Acquired Immune Deficiency Syndrome sowie hereditäre Störungen können die Wundheilung negativ beeinflussen. Auch das Alter, das Geschlecht und die Ernährung (Hypoproteinämie oder eine katabole Stoffwechsellage, Vitamin A, C oder E-Mangel), Magnesium-, Eisen- und Zinkmangel sind entscheidend für die Wundheilung. Zu den wichtigsten systemischen Einflussfaktoren zählen Hypoxie, Stress, eine aktuelle Zytostatikatherapie, eine Glukokortikoidtherapie oder eine Therapie mit Nicht-Steroidalen-Antirheumatika (NSAR) [21]. Durch Hypothermie bei rund 35° C aufgrund intraoperativen Wärmeverlustes erhöht sich das Risiko für Wundinfektionen infolge von Vasokonstriktion und verminderter Immunkompetenz [22]. Wichtig ist für die Wundheilung bei einer Neck Dissection aus chirurgischer Sicht insbesondere der Erhalt der Blutversorgung [19].

Nach ihrem klinischen Erscheinungsbild lassen sich Wundheilungsstörungen der Haut in Hämatome, Serome, Wunddehiszenz und Wundinfektionen differenzieren. Hämatome und Serome, Ansammlungen von Blut oder seröser Flüssigkeit im Gewebe, wirken sich durch Druck auf umliegende Strukturen und eine verzögerte Resorption problematisch auf die Wundheilung aus. Sie können das Entstehen einer Wunddehiszenz oder -infektion begünstigen. Ein Auseinanderweichen der Wundränder, die Wunddehiszenz, entsteht bei mangelndem Zusammenhalt der Wundschichten. Die Wunddehiszenz stellt das mechanische Versagen der Wundheilung dar, wobei Kollagen eine große Rolle spielt [23]. Postoperative Wundinfektionen entstehen durch Hautkeime des Patienten oder Keimverschleppung bei der Wundversorgung. Dabei begünstigt vor allem eine verminderte Sauerstoffversorgung im Wundgebiet das Keimwachstum [24].

Alkohol kann die Angiogenese vermindern und so zum Entstehen einer Wundinfektion beitragen [21]. C-reaktives Protein (CRP) ist ein „Akut-Phase-Protein“ aus der Leber und erleichtert die Elimination von Pathogenen durch Opsonierung [25]. Anhaltend hohe Werte nach dem dritten postoperativen Tag nach oraler Tumoroperation können auf eine Wundinfektion hinweisen, wenn eine Pneumonie oder andere Infektionen ausgeschlossen wurden [26].

3.3 Einfluss von Faktor XIII auf die Wundheilung

FXIII ist seit langem auch unter den Namen „Protransglutaminase“ und „Plasmatransamidase“ als letzter Schritt in der Gerinnungskaskade bekannt. Die Entdeckung von FXIII erfolgte vor ungefähr 90 Jahren. Sie ist mit den Namen Laki und Lorand, die 1948 die Existenz eines weiteren Gerinnungsfaktors bestätigten [27] und Duckert et al., die 1960 einen Fall genetischen FXIII-Mangels mit Wundheilungsstörung beschrieben [28], verknüpft.

FXIII wurde erfolgreich systemisch zur Stillung von Blutungen bei dem sehr selten angeborenen und häufiger erworbenen FXIII-Mangel sowie zur Verbesserung der Wundheilung eingesetzt [29]. Eine FXIII-Knock-out-Maus zeigte eine verbesserte Wundheilung nach FXIII-Gabe [30]. Beim Menschen zeigten sich in Fallberichten positive Effekte einer systemischen Gabe bei bestimmten Krankheitsbildern, wie zum Beispiel bei Colitis ulcerosa, Morbus Schönlein-Henoch [31] und bei Dekubitus [32]. In einer randomisierten doppelblinden klinischen Studie bei Ulcera crura wurde die Wirksamkeit einer lokalen Applikation von FXIII nachgewiesen [33]. Die Funktion von FXIII zeigte sich bei sehr hohen Plasmaspiegeln effektiver, als bei normal-niedrigen [29].

Biochemisch ist der FXIII eine aus zwei A- und zwei B-Untereinheiten bestehende Transamidase. Die B-Untereinheiten verlängern wohl vor allem die Halbwertszeit des FXIII-A (aktives Zentrum zwischen den A-Untereinheiten). Nach Aktivierung durch Thrombin und Abspaltung der B-Untereinheiten in Anwesenheit von Ca^{2+} und Fibrin katalysiert FXIII-A die Verknüpfung von Amidverbindungen zwischen Lysin und Glutamin. Dabei werden nicht-kovalent polymerisierte Fibringerinnsel und Proteine der extrazellulären Matrix, wie Kollagen und Fibronectine, stabilisiert. Mittels Plasminogenaktivatorinhibitor (PAI) und α_2 -Plasmininhibitor wird durch FXIII die Fibrinolyse verzögert [12].

Die Bedeutung von FXIII für die Wundheilung ergibt sich unter anderem aus der Verbindung zu Fibronectin und Kollagen [34], aber auch indem durch ihn Fibroblastenmigration [35], Keratinozytenwachstum [36], Angiogenese [37] und damit die Gewebereparatur gefördert werden. FXIII fördert auch Proliferation und Migration von Monozyten [38]. Somit unterstützt FXIII vor allem die frühe Wundheilung. Aufgrund seines vielseitigen Wirkungsspektrums, sind jedoch weitere Einflüsse denkbar.

3.4 Einfluss des spezifischen Immunsystems auf die Wundheilung

Der menschliche Körper verfügt über komplexe Abwehrmechanismen, die das Eindringen von pathogenen Keimen verhindern. Dabei wird in ein unspezifisches und spezifisches Immunsystem unterteilt. Als unspezifische Immunantwort gelten unspezifische nicht adaptive Abwehrmechanismen des Organismus wie der Säuremantel der Haut, das Komplementsystem, Enzyme, Mediatoren und phagozytierende Zellen. Das spezifische Erkennen und unschädlich machen von eingedrungenen Pathogen erfolgt durch die auch zu den Leukozyten zählenden Lymphozyten. Diese werden aufgrund ihres unterschiedlichen Reifungsorts in B- und T-Zellen unterteilt. B-Lymphozyten schütten Antikörper (humorale Immunantwort) aus, während T-Lymphozyten (zelluläre Immunität), das Pathogen direkt erkennen (zytotoxische Cluster of Differentiation (CD) 8 positive T-Zellen) oder Zytokine freisetzen und so die Immunantwort mitregulieren (CD4 positive T-Helferzellen). Alle T-Zellen werden durch CD3 charakterisiert, da diese membranständigen Moleküle eng mit dem T-Zell-Rezeptor assoziiert sind [25]. Natural Killer (NK)-Zellen sind Lymphozyten, die schneller als die B- und T-Lymphozyten auf Pathogene reagieren. Sie nutzen dabei unter anderem Unregelmäßigkeiten in der Antigenpräsentation [39].

Lymphozyten reagieren nur auf spezielle Erreger und Stimuli. Zur Detektion finden sich in der Haut die Langerhans-Zellen, dendritische Zellen, die in Lymphknoten wandern können, um Lymphozyten zu aktivieren. Dendritische epidermale T-Zellen regulieren eine Entzündung, sind wesentlich für den Wundverschluss, tragen zur Erregerabwehr und Induktion von Keratinozyten bei [21]. Auch periphere T-Zellen scheinen unentbehrlich für die Wundheilung zu sein. Nach Depletion aller T-Zellen war die Wundheilung verzögert. Während B-Lymphozyten nur vereinzelt in Wundgewebe gefunden wurden, migrieren T-Lymphozyten vor allem bis zum siebten Tag nach einer Verletzung dorthin. Speziell CD8 positive T-Zellen verschlechterten bei Ratten die

Wundheilung durch verminderte Reißfestigkeit der Wundränder bei niedrigeren Kollagenleveln [40].

Die Aktivierung der T-Lymphozyten verläuft über verschiedene Schritte und dauert vier bis fünf Tage. Ein Marker ihrer Aktivität ist der lösliche Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2-R), der von T-Lymphozyten sezerniert wird, um ihren autokrinen Aktivator IL-2 zu regulieren. Eine IL-2-Rezeptorvermehrung spricht für eine intensive zellvermittelte Immunantwort. Trifft eine T-Zelle auf ein Antigen, so wird der IL-2-Rezeptor durch Anlagerung „sensibler“ und die T-Zellen fangen an zu proliferieren. Der lösliche IL-2-Rezeptor wird von T-Zellen sezerniert, um überschüssiges IL-2 zu inaktivieren [39, 41]. Eine akute T-Zellaktivierung stellt sich durch einen hohen Anteil an humanen Leukozyten-Antigen-D-Related (HLA-DR) positiven Zellen der CD8 T-Zellen dar [42]. Eine chronische Aktivierung der T-Zellen kann durch einen erhöhten Anteil an CD57 der CD8 positiven T-Zellen angezeigt werden. Dieser steigt mit zunehmendem Alter als Hinweis auf persistierende Antigene im Körper an und die Erhöhung kann mit Malignität im HNO-Bereich assoziiert sein. Ein zunehmender Anteil CD57 positiver der CD8 positiven T-Zellen stellt eine mögliche Ursache für verschlechterte Immunkompetenz und damit auch häufigere Wundheilungsstörungen ab dem mittleren Erwachsenenalter dar, da die Gesamtzahl der T-Zellen im peripheren Blut im Thymus rückgekoppelt ist. Wenn weniger naive T-Zellen vorliegen, kann der Körper schlechter auf neue Antigene reagieren [43].

3.5 Herleitung der Fragestellung

In dieser Studie wurde der Zusammenhang zwischen prophylaktischer Gabe von FXIII und postoperativen Wundheilungsstörungen bei Patienten mit Alcohol Use Disorder (AUD) nach Neck Dissection untersucht. Die unten stehenden Fragestellungen wurden nach meinem Kenntnisstand in diesem Zusammenhang noch nicht geprüft.

3.5.1 Hypothese

Die prophylaktische Anwendung von FXIII führt zu einer Verringerung der Rate von postoperativen Wundheilungsstörungen bei Patienten mit AUD nach Neck Dissection und hat dabei einen Einfluss auf die postoperative Immunantwort, charakterisiert durch Leukozyten, CRP-Level, NK- und T-Zellen im peripheren Blut. Hierdurch kann die Krankenhausverweildauer bei Patienten mit AUD und Wundheilungsstörung verringert werden.

3.5.2 Fragestellung

Besteht ein Zusammenhang zwischen der prophylaktischen Gabe von FXIII und der Rate postoperativer Wundheilungsstörungen bei Patienten mit AUD?

3.5.3 Nachgeordnete Fragestellungen

- Hat die prophylaktische Gabe von FXIII einen Einfluss auf die postoperative zelluläre Entzündungsreaktion bei Patienten mit AUD?
- Hat die prophylaktische Gabe von FXIII einen Einfluss auf die postoperative spezifische Immunreaktion bei Patienten mit AUD?
- Kann die prophylaktische Anwendung von FXIII die Krankenhausverweildauer bei Patienten mit AUD, die eine Wundheilungsstörung entwickeln, verkürzen?

4 MATERIAL UND METHODEN

Die von der Ethikkommission (Ethikkommissionsvotum Nr.: 2185/ Si. 297) am 08.07.2004 genehmigte, klinisch-experimentelle Pilotstudie mit dem Titel, „Kann die Gabe von Faktor XIII die Krankenhausverweildauer bei alkoholkranken Patienten verkürzen?“, wurde in der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte und Campus Virchow-Klinikum, unter der Leitung von Frau Prof. Dr. med. Claudia Spies, gemäß der Richtlinie 2001/20/EG über die Anwendung der guten klinischen Praxis (GCP-Richtlinie) der Charité-Universitätsmedizin Berlin durchgeführt (ISRCTN41162940). Das Ziel der eigenen Untersuchung (Teilergebnisse) war die Begutachtung der Wundheilung bei Patienten mit mehr als 60 g Alkoholkonsum pro Tag und Neck Dissektion, die prospektiv randomisiert, doppelblind und placebokontrolliert FXIII-Präparate erhielten. Den primären Endpunkt der Studie stellte die Verkürzung der Krankenhausverweildauer dar. Die Verringerung der Wundheilungsstörungsrate, Einflüsse auf postoperative zelluläre Entzündungsreaktion und spezifische Immunreaktion sowie die Verkürzung der Krankenhausverweildauer bei Auftreten einer Wundheilungsstörung waren sekundäre Endpunkte. Der Beobachtungszeitraum der Studie endete nach zehn Tagen.

4.1 Studienprotokoll

Im Zeitraum vom 15.08.2007 (erste Änderung des Ethikvotums nach dem 08.07.2004, Einschluss erster Patient am 29.08.2007) bis zum 18.01.2010 wurden auf der Station 135 der HNO-Klinik am Campus Charité Mitte (CCM) und der Station 4 der Klinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie (MKG) am Charité Campus Virchow-Klinikum (CVK) über wöchentliche Durchsicht der Operationspläne und die Prämedikationsvisite Patienten gescreent. Ziel waren insgesamt 80 Patienten. Jeweils sollten 40 alkoholranke und 40 nicht alkoholranke Patienten mit elektiver Tumoroperation des oberen Gastrointestinaltraktes oder Knie-Totalendoprothesenimplantation gegenüber gestellt werden. In jeder Gruppe sollten die Hälfte der Patienten FXIII erhalten.

Es konnten 23 alkoholranke Patienten mit Tumoroperation des oberen Gastrointestinaltraktes eingeschlossen werden, bevor die Studie aus finanziellen Gründen beendet wurde. Sie wurden ausführlich mündlich, sowie anhand einer

Patienteninformationsschrift unter anderem über die wissenschaftlichen Ziele, den Ablauf und die möglichen Nebenwirkungen der Studie aufgeklärt. Bis spätestens einen Tag vor der Operation wurde eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

4.1.1 Einschlusskriterien

- Alter \geq 18 Jahre
- tägliche Alkoholtrinkmenge \geq 60 g und Tumoroperation im Bereich des oberen Gastrointestinaltraktes oder kein erhöhter Alkoholkonsum oder Knie-Totalendoprothesenimplantation
- schriftliche Einverständniserklärung

4.1.2 Ausschlusskriterien

- Ablehnung des Patienten
- Alter $<$ 18 Jahren
- Anamnese einer Lungenembolie
- Anamnese einer tiefen Venenthrombose
- Therapie mit Antikoagulantien vom Vitamin-K-Antagonisten-Typ
- Leberzirrhose (Child B oder C, Leberbiopsie)
- Angina pectoris
- dekompensierte Herzinsuffizienz
- Blutgerinnungsstörung (angeboren)
- Blutgerinnungsstörung (erworben)
- terminale Niereninsuffizienz
- Immunsuppression

4.1.3 Individuelle Abbruchkriterien

Die Patienten konnten zu jedem Zeitpunkt ihre schriftliche Einverständniserklärung zurückziehen und ihre Teilnahme an der Studie beenden. Das Auftreten einer lebensbedrohlichen Komplikation wäre ein sofortiges Abbruchkriterium gewesen. Ein Notfallbrief mit den nötigen Informationen im Falle einer vermuteten schwerwiegenden

Komplikation im Zusammenhang mit der Studienmedikation wurde während der Studiendauer in der Patientenakte hinterlegt.

4.1.4 Gruppeneinteilung

Die zufällige Zuteilung (Randomisierung) zur Studien- oder Kontrollgruppe wurde durch die Apotheke des CVK festgelegt und durch diese verblindet. Mit der Visite des letzten Patienten am 18.01.2010 endete die Studie. Die Entblindung der Daten fand nach einer unabhängigen Prüfung der Dokumentation am 15.09.2010 statt. Von den 23 eingeschlossenen Patienten erhielten elf Patienten Fibrogammin® (Studiengruppe) und zwölf Patienten Placebo (Kontrollgruppe).

4.2 Fibrogammin®

Das aus menschlichem Plasma gereinigte FXIII-Konzentrat, Handelsname Fibrogammin®, ist ein Produkt der Commonwealth Serum Laboratories Behring GmbH Marburg. Es ist zugelassen als 2-00163 Fibrogammin® und 2-00164 Fibrogammin®. Laut der Fachinformation von 2007 ist FXIII als Medikament bei kongenitalem oder erworbenem Mangel an FXIII mit daraus folgender hämorrhagischer Diathese, Blutung und Wundheilungsstörung zu verwenden. Supportiv kann das Medikament bei gestörter Wundheilung nach großen Operationen, Knochenbrüchen oder komplizierten Verläufen eines Ulcus cruris eingesetzt werden.

Bei der Herstellung werden Standardmaßnahmen zur Abtötung von Viren und Bakterien durchgeführt. Ein Restrisiko für das nicht-umhüllte Parvovirus B 19 und bisher unbekannte Viren bleibt bestehen. Da das Präparat Glukose und Salze enthält, ist es bei Diabetikern und Menschen, die eine salzarme Diät einhalten sollten, weniger geeignet. Als unerwünschte Nebenwirkung der Behandlung mit FXIII besteht selten die Möglichkeit einer allergischen oder anaphylaktischen Überempfindlichkeitsreaktion mit Fieber, Blutdruckabfall, Urtikaria, Übelkeit oder Atemnot bis hin zum Schock.

Das FXIII-Präparat wurde nach dem in Abbildung 2 gezeigten Schema intravenös über die Kubitalvene appliziert (in Internationalen Einheiten, IE). Als Placebopräparat wurde in der Studie 0,9 prozentiges Natriumchlorid (NaCl) in entsprechender Menge eingesetzt. Die undurchsichtigen Perfusorspritzen wurden nach Ausgabe durch die

Apotheke bis zur Anwendung nach den Vorgaben für Haltbarkeit (Verwendung bis maximal 48 Stunden nach Herstellung, Lagerung bei +2 bis +8° C) aufbewahrt.

4.3 Studienablauf

Präoperativ wurden Patientendaten, wie Alter, Gewicht, Größe, Diagnose und Nebendiagnosen erfasst. Die Erfassung des Alkoholkonsums erfolgte mittels eines alkoholismusrelevanten Fragekataloges nach den Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-IV-Kriterien: dem AUDIT (Alcohol Use Disorders Identifikation Test). Zur Erfassung der Trinkgewohnheiten und der täglichen Alkoholtrinkmenge werden zehn Fragen gestellt, die maximal 40 Punkte ergeben [44]. Zusätzlich wurde der „CAGE“-Fragebogen erhoben, der nach „Cutting down“, „Annoyance by criticism“, „Guilty feeling“ und „Eye-openers“ fragt (maximal vier Punkte) [45].

Eine Nikotinabhängigkeit wurde durch den Fagerström-Fragebogen erfasst. Dieser kann null bis elf Punkte ergeben, wobei er für die meisten Raucher zwischen fünf und sechs Punkten und bei Menschen, die aufhören möchten zu rauchen, bei sechs bis sieben Punkten liegt. Die Werte zeigen eine zunehmende Abhängigkeit an. Null Punkte sind ein Indiz für minimale, elf Punkte für maximale Nikotinabhängigkeit [46].

Die Dokumentation der Patientendaten und des Studienablaufes erfolgten kontinuierlich vom Operationstag bis zum zehnten postoperativen Tag oder bis zur vorherigen Entlassung mit Hilfe einer Case Record Form (CRF). Es wurden zu sechs Zeitpunkten Blutentnahmen durchgeführt. Postoperativ wurden unter anderem Vitalparameter wie Blutdruck, Puls und Körpertemperatur erfasst.

Die Bewertung der Wundheilung erfolgte täglich durch die jeweiligen Stationsärzte. Es wurde das Auftreten von Wunddehiszenzen, Seromen, Hämatomen und Infektionen erfasst. Wundinfektionen wurden mittels der Definition für nosokomiale Infektionen nach den Centers for Disease Control and Prevention (CDC)-Kriterien des Robert Koch Instituts diagnostiziert. Als postoperative oberflächliche nosokomiale Infektionen (A1) wurden Infektionen der Haut oder des subkutanen Gewebes definiert, die eines der folgenden Kriterien erfüllten: eitrige Sekretion, kultureller Nachweis von Erregern aus regelrecht entnommenem Material, lokale Entzündungszeichen mit Erregernachweis oder Diagnose des behandelnden Arztes [47].

Auch als Indikator für Blutungskomplikationen wurden intraoperative Transfusionen erfasst. Alle Patienten wurden hinsichtlich perioperativer Antibiotika- und Ulkusprophylaxe, sowie niedermolekularer Heparinisierung nach dem gleichen Schema der operativen Fachrichtung behandelt. Die Krankenakten wurden zur Beurteilung des klinischen Verlaufes hinzugezogen.

Als wesentliche Kontrolle der Medikamentenintervention wurde im Verlauf Vollblut mittels peripherer Venenpunktion oder über einen arteriellen Zugang unter hygienisch-sterilen Bedingungen entnommen und anonymisiert im Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie (ILP), Augustenburger Platz 1, 13533 Berlin, untersucht. Es wurden Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-, Citrat-, Heparin-, Serum-, sowie Spezial-Citrat-Vacutainer® (Verhältnis von Citrat zu Blut 1:10), arterielle und venöse Zugangssysteme, Sicherheitsbutterflys und Spritzen der Becton Dickinson (BD) GmbH Heidelberg verwendet. Abbildung 2 zeigt den Verlauf als Zeitstrahl.

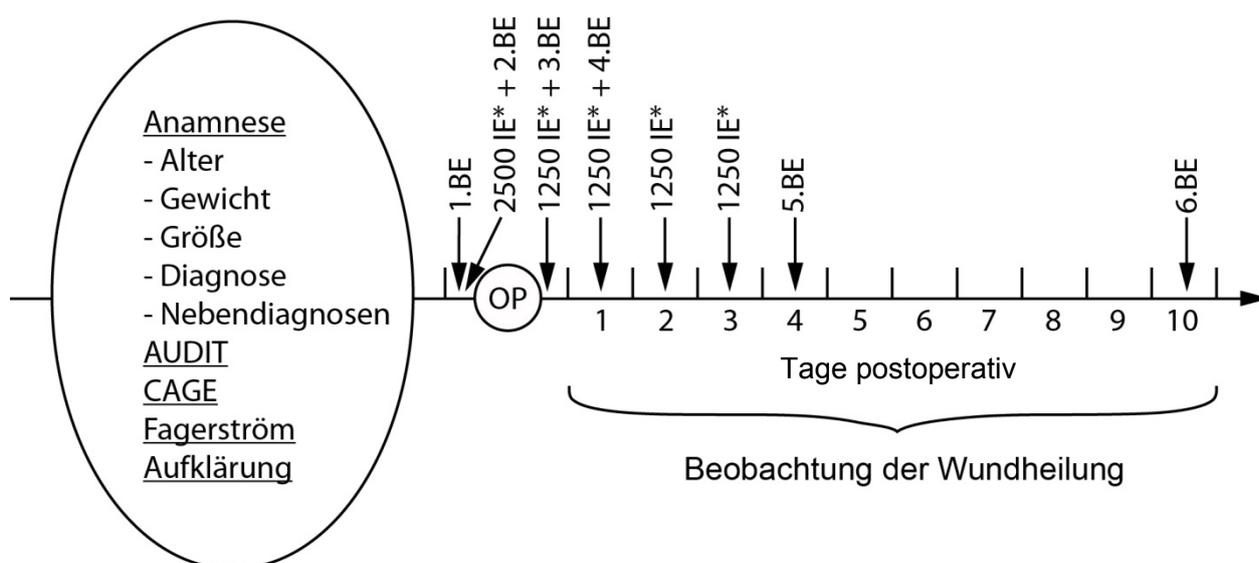


Abbildung 2: Studienverlauf, *Gabe von FXIII in angegebener Menge in Internationalen Einheiten (IE) oder Placebo.

4.4 Laborparameter

Als alkoholismusrelevante Laborparameter wurden bei der ersten Blutentnahme (BE), das Kohlenhydrat-defiziente Transferrin (CDT), die Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV), Harnstoff, Blutalkoholspiegel, Aspartat-Aminotransferase (AST) und Alanin-Aminotransferase (ALT) bestimmt. CDT

wurde im Serum gemessen. Ein Serum-Röhrchen wurde bei 3000 U/min zehn min lang in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert und das überstehende Serum abpipetiert. Anschließend wurde ein partikelverstärkter kompetitiver Immunoassay durchgeführt. GGT (Fotometrie, kinetischer Test nach Szasz, bei 37° C), Harnstoff (Fotometrie mit Urease, Glutamatdehydrogenase), Blutalkoholspiegel (Fotometrie mit Alkoholdehydrogenase), AST und ALT (nach der International Federation of Clinical Chemistry mit Pyridoxalphosphataktivierung, bei 37° C) wurden im Heparin-Plasma bestimmt. Dafür wurde ein Heparin-Plasma-Röhrchen bei 3000 U/min zehn min lang in einer Kühlzentrifuge zentrifugiert und das anschließend überstehende Plasma abpipetiert. MCV wurde mittels Durchflusszytometrie aus einem mit Patientenblut befüllten EDTA-Röhrchen gemessen.

Neben den alkoholismusrelevanten Laborparametern, die bei der ersten BE bestimmt wurden, wurde bei allen BE ein kleines Blutbild mittels Durchflusszytometrie durchgeführt. Die Thromboplastinzeit (TPZ) wurden nach International Normalized Ratio (INR) sowie die Partial Thromboplastin Time (PTT) mittels Koagulometrie aus Citrat-Blut gemessen. Bei jeder BE erfolgte die Abnahme einer venösen bzw. arteriellen Blutgasanalyse (BGA). Diese wurde mittels der BGA-Geräte vom Typ ABL800 FLEX der Radiometer GmbH Willich auf den Intensivstationen 103i am CCM und der Station 8i am CVK unmittelbar analysiert. CRP wurde mittels Immunturbidimetrie ebenfalls aus dem Serum bestimmt.

Bei allen außer der zweiten BE wurde ein „großer Immunstatus“ im Institut für Medizinische Immunologie, CVK, Institutsgebäude Süd, Föhrer Str. 15/Südstr. 2, 13353 Berlin, durchgeführt. Es wurde jeweils Blut aus zwei EDTA-Röhrchen verwendet, das in einer Zentrifuge der Firma Eppendorf bei 1000g für zehn Minuten lang zentrifugiert wurde. Aus dem abpipettierten Überstand wurden sofort oder nach Zwischenlagerung bei -80° C Lymphozyten relativ und absolut durchflusszytometrisch mittels des FACSCalibur™ von BD bestimmt. Nach Markierung mit Antikörpern (AK) wurden ebenso die Lymphozytensubpopulationen (CD3 positive Zellen (T-Zellen) mit AK CD3 Phycoerythrin (PE) von BD, CD8 positive T-Zellen mit AK CD8 PE und CD16 positive NK-Zellen mit AK CD16 Fluoresceinisothiocyanat (FITC) der Firma DAKO Eching) und die T-Zell-Aktivierung (HLA-DR positive in % der CD8 positiven T-Zellen für akute mit dem AK HLA-DR PE und CD57 positive in % der CD8 positiven T-Zellen für chronische Aktivierung mit dem AK CD57 FITC von BD) gemessen. Für die Untersuchung des sIL-2-R kam ein automatisches Immunoassay namens Immulite® der Siemens Healthcare

Diagnostics GmbH Eschborn zum Einsatz. Bei der Auswertung der Laborparameter wurden die Referenzwerte des ILP, bzw. seit dem 01.01.2011 des Labors Berlin-Charité Vivantes GmbH, Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin, verwendet.

4.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistikprogrammes SPSS™ bzw. PASW® Statistics 18 bis 22 für Windows NT™, Microsoft Excel® 2007, GraphPad PRISM™ 6 sowie R 3.0.1. Zur deskriptiven Beschreibung der Daten werden für stetige Merkmale Median (Med), Mittelwert (Mittel), Standardabweichung (σ), sowie der Interquartilsabstand (IQR) angegeben. Qualitative Merkmale werden durch absolute und prozentuale Häufigkeiten beschrieben.

Wegen der geringen Stichprobenumfänge und nicht-normalverteilter Beobachtungspunkte wurden Vergleiche von Studien- und Kontrollgruppe stets nichtparametrisch mit dem exakten Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Der Vergleich qualitativer Merkmale wurde mit dem exakten Test nach Fisher durchgeführt. Der Vergleich zeitlicher Abläufe wurde zwischen den Behandlungsgruppen mit Hilfe einer nichtparametrischen Analyse longitudinaler Daten in einem zweifaktoriellen Design (erster Faktor: Gruppe, zweiter Faktor: Zeit (Blutentnahme)) nach Brunner vorgenommen [48]. In der nichtparametrischen longitudinalen Analyse wurden Unterschiede zwischen den Gruppen über die Zeit, systematische Änderungen in der Zeit über die Gruppen und Wechselwirkungen zwischen Gruppe und Zeit getestet.

Sämtliche Tests wurden auf einem zweiseitigen Signifikanzniveau von 5 % ($p < 0,05$) ausgewertet. Wegen des explorativen Charakters der Studie wurde nicht für multiples Testen adjustiert. Alle durchgeführten statistischen Tests sind in den Ergebnissen aufgeführt. Die Angabe der Resultate erfolgt, wenn nicht anders angegeben, in der Reihenfolge Median, Mittel $\pm \sigma$ Placebogruppe (25 %-75 % Quartile Placebogruppe); Median, Mittel $\pm \sigma$ FXIII-Gruppe (25 %-75 % Quartile FXIII-Gruppe) und p (zweiseitig) im Vergleich von Placebo- zu FXIII-Gruppe.

5 ERGEBNISSE

5.1 Basisdaten des Patientenkollektivs

In diese Pilotstudie konnten 23 Patienten eingeschlossen werden. Es traten keine schwerwiegenden unerwünschten Komplikationen durch das Medikament auf. Kein Studienpatient brach die Studie vorzeitig ab. Es wurden elf Patienten der FXIII- und zwölf Patienten der Placebogruppe verblindet randomisiert durch die Apotheke zugeteilt. In jeder Gruppe war eine Frau. Das Alter der Patienten lag durchschnittlich bei 56 Jahren.

Der erfragte tägliche Alkoholkonsum der Patienten lag bei 136, 151 ± 99 (73/203); 106, 150 ± 100 (85/186) g, $p = 1,0$, also deutlich über der Grenze von 60 g pro Tag. Bei zwei Patienten wurden genau 60 g pro Tag evaluiert. Die Werte für die Blutalkoholkonzentration waren präoperativ, zum Zeitpunkt der ersten BE, tendenziell unterschiedlich zwischen den Studiengruppen. Bezüglich der Alkoholabhängigkeit ergaben AUDIT und CAGE im Median mittlere Werte um 12 in beiden Studiengruppen (AUDIT) und 1 in der Placebo- und 2 in der FXIII-Gruppe (CAGE).

Bei den alkoholismusrelevanten Laborparametern lagen MCV (Norm 81-100 fl), Harnstoff (Norm 14-46 mg/dl), ALT (Norm < 45 U/l für Männer und < 34 U/l für Frauen) und AST (Norm < 50 U/l für Männer und < 35 U/l für Frauen) innerhalb des Normbereichs. ALT war in der FXIII-Gruppe präoperativ signifikant höher ($p = 0,003$). In beiden Gruppen war CDT (Norm < 2,5 %), dem chronischen Alkoholkonsum der Patienten entsprechend, erhöht. Die GGT (< 55 U/l für Männer und < 38 U/l für Frauen) lag in der Placebogruppe im Normbereich und in der FXIII-Gruppe oberhalb der Norm. Bei beiden Frauen waren die Werte erhöht.

In beiden Gruppen gab es jeweils einen ehemaligen Raucher, ansonsten rauchten aktuell alle Patienten. Der Nichtraucher der Placebogruppe rauchte anamnestisch erst seit einer Woche, der Nichtraucher der FXIII-Gruppe seit 30 Jahren nicht mehr. Der Fagerströmindex wurde mit 4, 5 ± 2,2 (1/8); 4, 4 ± 2,8 (1/10) Punkten, $p = 0,976$, angegeben, was in beiden Gruppen auf eine mittlere Nikotinabhängigkeit nach dem Fagerströmindex hindeutete. Somit waren beide Gruppen einem ähnlichen zusätzlichen Risiko durch Nikotinkonsum ausgesetzt. Die Basisdaten werden in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Basisdaten

Charakteristika	Placebo				Faktor XIII				p-Wert
	(n = 12)				(n = 11)				
	Med	Mittel	σ	IQR	Med	Mittel	σ	IQR	
Geschlecht (m/f)	11/1	--	--	--	10/1	--	--	--	--
Alter (Jahre)	54	55	8,9	51/61	55	57	9,1	49/65	--
CAGE	1	1	1,1	0,25/1,75	2	2	1,2	1/3	0,26
AUDIT	12	13	6,4	7/18	12	15	9	10/19	0,604
Alkoholkonsum (g/d)	136	151	99	73/203	106	150	100	85/186	1,0
ALT (U/L)	18	20	7,4	14/24	42	51	40	29/60	*0,003
AST (U/L)	25	35	27	21/41	34	51	38,7	27/75	0,22
CDT (%)	3,2	3,8	1,6	2,4/5,4	2,8	3,2	1,9	2,1/3,6	0,414
GGT (U/L)	49	135	199	31/93	71	96	62	60/120	0,223
Harnstoff (mg/dl)	19	20	8,2	13/26	25	29	10,5	22/39	0,122
Ethanol (g/l)	0,1	0,3	0,6	0,0/0,2	0,0	0,04	0,1	0,0/0,1	0,079
MCV (fl)	96	96	4,9	93/99	95	94	5,3	90/97	0,566
Raucher (n/y)	11/1	--	--	--	10/1	--	--	--	--
Fagerström	4	5	2,2	1/8	4	4	2,8	1/10	0,976
KHK (n/y)	11/1	--	--	--	10/1	--	--	--	--
Diabetes mellitus (n/y)	12/0	--	--	--	10/1	--	--	--	--
BMI (kg/m ²)	22	24	3,8	21/26	22	23	4	20/26	0,695

Im Patientenkollektiv bekannte Risikofaktoren für Wundheilungsstörungen waren, neben Alkohol, Rauchen und der Tumorerkrankung, das Geschlecht, Adipositas, Diabetes mellitus und Arteriosklerose bzw. koronare Herzkrankheit (KHK). Die beiden zuletzt genannten Risikofaktoren traten nur bei Patienten ohne Wundheilungsstörung auf. Keine der beiden Frauen wies eine Wundheilungsstörung auf. Der BMI lag bei 22, 24 \pm 3,8 (21,2/26); 22, 23 \pm 4 (20,1/26,2) kg/m², p = 0,695. Eine Übersicht der Risikofaktoren für Wundheilungsstörungen bei den einzelnen Patienten der Studie folgt in Tabelle 2.

Ein Patient mit einer Wunddehiszenz (Patient Nr. 8) wurde an einem Tumorrezidiv operiert und hatte zuvor eine Strahlentherapie erhalten. Eine vorherige Zytostatikatherapie war bei keinem Patienten bekannt. Ob auch die Transfusion von Erythrozytenkonzentraten (EK) und Fresh Frozen Plasma (FFP) oder Anämie als Risikofaktoren gelten sollten, wird unten diskutiert.

Tabelle 2: Übersicht der Risikofaktoren für Wundheilungsstörungen, (Fett = Placebo-gruppe, Kursiv = FXIII-Gruppe), * Alkoholkonsum und Tumorerkrankung bei allen Patienten. POD = Postoperative Day.

Nr.	Wundheilungsstörung	Risikofaktoren Wundheilungsstörung*
1		Raucher
2		<i>Raucher</i>
3		<i>Raucher</i>
4		Raucher
5		
6	POD 1: Hämatom	Raucher, intraoperativ Transfusion 3 EK
7		Raucher
8	<i>POD 9: Wunddehiszenz</i>	<i>Raucher, Adipositas BMI 31,6 kg/m²</i>
9	<i>POD 2: Wunddehiszenz</i>	<i>Raucher, Strahlentherapie in Vorgeschichte, intraoperativ Transfusion 1 EK und 2 FFP</i>
10		Raucher, KHK, weiblich
11		Raucher, Anämie 9,7 g/dl präoperativ, intraoperativ Transfusion 2 EK
12		<i>Raucher, weiblich</i>
13		<i>Raucher</i>
14		<i>Raucher, Diabetes mellitus</i>
15	POD 4: Hämatom	
16	POD 6: Serom	Raucher
17		<i>Raucher, KHK</i>
18	POD 1: Hämatom	Raucher
19	POD 9: Wunddehiszenz	Raucher
20		<i>Raucher</i>
21		<i>Raucher, Anämie 12 g/dl präoperativ</i>
22		Raucher, Adipositas BMI 30,2 kg/m²
23		Raucher

Die zugrunde liegenden Tumorerkrankungen im HNO-Bereich variierten in ihrer Primärlokalisierung und Klassifikation. Bei 21 Patienten ergab eine Einteilung ins Tumor Node Metastasis (TNM)-System fünfmal T1, zwölfmal T2, zweimal T3, zweimal T4. Zwei Patienten wurden zum einen aufgrund eines Rezidivs eines zuerst nicht an der Charité operierten Primärtumors und zum anderen aufgrund eines Cancer of Unknown Primary (CUP) nicht klassifiziert.

Die Operationen unterschieden sich im Operationsumfang und der Art der Rekonstruktion. Die Neck Dissection wurde in elf Fällen beidseits operiert, wovon vier einseitig auch radikal operiert wurden. Dabei wurden sieben der beidseitigen und drei der beidseitig radikalen Eingriffe bei Patienten der Placebogruppe durchgeführt. Von den zwölf einseitigen Eingriffen erfolgten sieben radikal. Bei den einseitig radikal operierten Eingriffen waren drei Patienten in der Placebo- und vier in der FXIII-Gruppe. Bei allen Patienten reichte der Schnitt am Hals mindestens von Lymphknotenlevel

I bis III. In der Placebogruppe lagen fünf Patienten auf der Station 4 der MKG am CVK und sieben Patienten auf der Station 135 der HNO am CCM. In der FXIII-Gruppe fünf Patienten auf der Station 4 der MKG am CVK und sechs Patienten auf der Station 135 der HNO am CCM. Vier der Patienten, die in der MKG behandelt wurden, erhielten eine Rekonstruktion. Neben einem Fibulatransplantat bei Patient Nr. 19, wurden drei Radialislapen operiert (Patienten Nr. 17, 20, 21). Drei von fünf Wundheilungsstörungen in der Placebogruppe traten bei beidseits operierten Patienten auf und in der FXIII-Gruppe bei einseitig operierten Patienten. Eine detaillierte Auflistung aller TNM-Stadien, der primären Tumorlokalisation, durchgeführter Rekonstruktionen und der Art der Neck Dissection folgt in Tabelle 3.

Tabelle 3: Übersicht Operationen, (Fett = Placebo-, Kursiv = FXIII-Gruppe, Patienten mit Wundheilungsstörung sind rot markiert).

Nr.	TNM (soweit bekannt)	primäre Tumorlokalisation	Rekonstruktion	Neck Dissection
1	pT3pN2bG2R0V0M0	Larynx		beidseits (links I-IV, rechts II-IV)
2	<i>pT3pN2aG2R0M0</i>	<i>Zunge rechts</i>		<i>rechts radikal</i>
3	<i>pT2pN0G2R0L0V0</i>	<i>Tonsille links</i>		<i>links radikal</i>
4	pT2pN2aG3R0M0	Tonsille rechts		rechts radikal
5	<i>Rezidiv</i>	<i>Unterlippe</i>		<i>beidseits (links II-IV, rechts I-IV)</i>
6	pT2pN1G2R0	Mundboden		beidseits (links radikal, rechts II-IV)
7	pT2pN1R0V0M0	Tonsille links, Oropharynx links		links radikal
8	<i>pT2pN2bG3R0L0V0M0</i>	<i>Zungengrund</i>		<i>links radikal</i>
9	<i>cT4cN2, 2. cT1cN1</i>	<i>Tonsille rechts</i>		<i>rechts II-IV</i>
10	pT1pN0G3R0M0	Larynx rechts		rechts II-IV
11	CUP	unbekannt		beidseits (links radikal, rechts vier Regionen)
12	<i>pT1pN0G3R0L0V0M0</i>	<i>Oropharynx links</i>		<i>links II-IV</i>
13	<i>pT2pN2bG2R0L1</i>	<i>Zunge</i>		<i>beidseits radikal</i>
14	<i>pT2pN1G3R0L1V0</i>	<i>Mundboden</i>		<i>links radikal</i>
15	pT1pN0G2R0L0V0pM0	Oropharynx links		links I-III
16	pT2pN1G2R0L0V0	Larynx rechts		rechts radikal (II-V)
17	<i>pT2pN0G2R0L0V0</i>	<i>Oropharynx links</i>	<i>Radialislapen</i>	<i>links I-III</i>
18	pT2pN1G2R0V0M0	Hypopharynx		beidseits II-IV
19	T4N1G2M0	Mundboden	Fibulatransplantat	beidseits (links I-IV, rechts I-III)
20	<i>pT2pN0cG2</i>	<i>Mundboden</i>	<i>Radialislapen</i>	<i>beidseits drei Regionen</i>
21	<i>pT1pN1G2R0</i>	<i>Mundboden</i>	<i>Radialislapen</i>	<i>beidseits drei Regionen</i>
22	pT2pN2G2R0	Zunge rechts		beidseits radikal
23	pT1pN0G2R0	Mundboden		beidseits I-III

5.2 Postoperative Wundheilungsstörungen

Bei insgesamt sieben Patienten traten Wundheilungsstörungen auf, wobei zwei der FXIII-Gruppe und fünf der Placebogruppe betroffen waren (siehe Tabelle 4). In der FXIII-Gruppe traten rund 20 % weniger Wundheilungsstörungen auf. Der Unterschied zwischen den Wundheilungsstörungen in den Gruppen zeigte mit dem exakten Test nach Fisher aber keine Signifikanz ($p = 0,371$).

Die Wundheilungsstörungen ließen sich in drei Patienten mit Hämatomen, einen Patienten mit Serom und drei Patienten mit Wunddehiszenzen aufteilen. Im Studienzeitraum wurde keine Wundinfektion beobachtet. In Abbildung 3 wird die Verteilung der Wundheilungsstörungen als Balkendiagramm dargestellt. Die Hämatom- und Seromfälle traten in der Placebogruppe auf. Eine Wunddehiszenz wurde in der Placebogruppe, zwei weitere in der FXIII-Gruppe beobachtet. Insgesamt ergab sich eine (nicht signifikant von 1 verschiedene) Odds Ratio von 3,21 (95 %-Konfidenzintervall: 0,47 – 21,8; $p = 0,232$). Das Risiko eine Wundheilungsstörung zu erleiden, war in der Placebogruppe dreimal so groß, aber nicht signifikant unterschiedlich zur FXIII-Gruppe. Eine logistische Regressionsanalyse mit Variablenselektion im Abbauverfahren zeigte ebenfalls keinen signifikanten Einfluss der Gruppeneinteilung, von Adipositas und Raucherstatus auf das Auftreten einer Wundheilungsstörung. Die Odds Ratio für die Gruppeneinteilung lag hier im zweiten Schritt der Merkmalsreduktion bei 3,33 (95 %-Konfidenzintervall: 0,476 – 23,215; $p = 0,226$).

Tabelle 4: Übersicht Wundheilungsstörungen

	Wundheilungsstörung im postoperativen Verlauf		Gesamt
	nein	ja	
Placebogruppe	7	5 (41,6 %)	12
FXIII-Gruppe	9	2 (18 %)	11
Gesamt	16	7 (30,4 %)	23
Odds Ratio	3,21 ; 95 %-Konfidenzintervall: 0,47 – 21,8; $p = 0,232$		

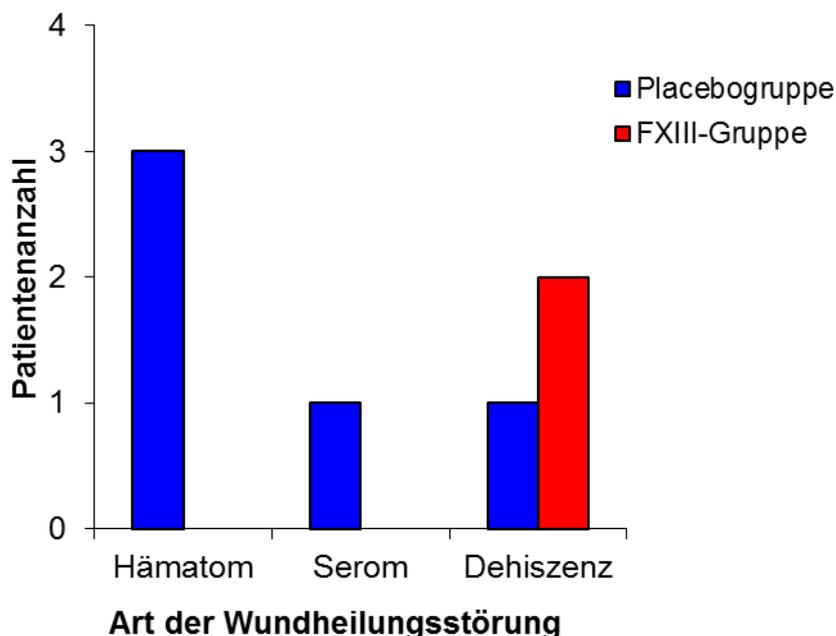


Abbildung 3: Übersicht Unterteilung der Wundheilungsstörungen (n = 7). In der Placebogruppe (n = 12) entwickelten drei Patienten ein Hämatom, ein Patient ein Serom und ein Patient eine Dehiszenz (insgesamt 41,6 % der Placebogruppe). In der FXIII-Gruppe (n = 11) zeigte sich bei zwei Patienten eine Dehiszenz (18 % der FXIII-Gruppe). Das Balkendiagramm zeigt die Absolutzahlen.

5.2.1 Hämatome und Serome

Alle Hämatomfälle traten in der Placebogruppe auf. Sie wurden in zwei Fällen am ersten postoperativen Tag (Patienten Nr. 6 und 18) und in einem Fall am vierten postoperativen Tag dokumentiert (Patient Nr. 15). In einem frühen Fall (Patient Nr. 18) wurde die Naht zervikal rechts in Analgosedierung auf der Intensivstation wiedereröffnet, Blut entfernt und die Wunde mit Octenisept® gespült. Am dritten postoperativen Tag war bei geschlossener Wunde kein Hämatom mehr zu erkennen. In dem anderen früh dokumentierten Fall (Patient Nr. 6) zeigte sich zervikal links ein oberflächliches Hämatom. Es entwickelte sich im Verlauf eine kleine Nekrose im Nahtbereich, die mit einem Braunovidon® Salbenverband versorgt wurde. Im Fall am vierten postoperativen Tag (Patient Nr. 15) wurde zur Behandlung einer Schwellung zervikal rechts auf Station ein Teil der Naht entfernt und ein älteres Hämatom entdeckt. Es wurde eine Lasche eingelegt. Trotz einer leichten Wunddehiszenz im Verlauf konnte der Patient am zwölften postoperativen Tag aus dem Krankenhaus entlassen werden. Ein Patient (Patient Nr. 16) der Placebogruppe zeigte am sechsten postoperativen Tag

zervikal ein Serom. Durch Abpunktion und Druckverbände war das Serom innerhalb von drei Tagen therapiert. Die abpunktierte Flüssigkeit ergab kein Wachstum in der mikrobiologischen Untersuchung. Hämatome und Serome zusammen zeigten im exakten Test nach Fisher eine geringe Tendenz häufigeren Auftretens in der Placebogruppe ($p = 0,093$).

Als Indikator für Blutungskomplikationen wurden auch Transfusionen notiert. Patient Nr. 6 erhielt intraoperativ drei EK. Die anderen Fälle von EK-Gaben wurden Patient Nr. 9 (ein EK und zwei FFP intraoperativ) und Patient Nr. 11 (zwei EK), der bereits präoperativ eine Anämie aufwies (Hb-Wert von 9,7 g/dl), transfundiert. Patient Nr. 9, ein Patient der FXIII-Gruppe, entwickelte postoperativ eine Wunddehiszenz und ein Lymphödem (siehe unten). Bei Patient Nr. 11, der Placebo erhielt, wurde keine Wundheilungsstörung beobachtet.

Die Werte für Thrombozyten, PTT und TPZ waren dabei postoperativ jederzeit im therapeutischen oder Normbereich und unterschieden sich in den beiden Gruppen nicht signifikant (für Thrombozyten BE 3: $p = 0,880$, BE 4: $p = 0,413$, BE 5: $p = 0,539$, BE 6: $p = 1,0$, für PTT BE 3: $p = 0,211$, BE 4: $p = 0,069$, BE 5: $p = 0,085$, BE 6: $p = 0,815$, für TPZ BE 3: $p = 1,0$, BE 4: $p = 0,347$, BE 5: $p = 0,059$, BE 6: $p = 0,122$). Die Körpertemperatur lag bei den Patienten mit Hämatomen zum Ende der Operation bei durchschnittlich $36,8^{\circ}\text{C}$. Im Median lag die Temperatur zum OP-Ende in der Placebogruppe bei $37,1^{\circ}\text{C}$ und in der FXIII-Gruppe bei 37°C .

5.2.2 Wunddehiszenzen

Bei drei Patienten (Patienten Nr. 8, 9, 19) trat am neunten postoperativen Tag zervikal eine Wunddehiszenz auf. Bei zwei der Patienten wurden Wundabstriche durchgeführt, die aber vermutete Wundinfektionen nicht belegten (einmal vereinzelt Detritus, *Klebsellien* und einmal wenig Zellen, *Streptokokkus oralis*). Bei Patient Nr. 8 besserte sich die Wundheilungsstörung zervikal links allein unter intensiver Wundpflege. Patient Nr. 9 zeigte submental rechts eine drei cm messende Wundtasche, die mit Promogran Prisma® Pflaster versorgt wurde. Patient Nr. 19 erhielt bei starker Wundsekretion im Bereich der Drainagenlasche rechts einen speziellen Wundverband, der mit Unterdruck durch eine Saugpumpe arbeitet (Vakuumverband). Dieser Patient befand sich in der Placebogruppe, die anderen beiden Patienten waren der FXIII-Gruppe zugeteilt.

5.3 Immunparameter

Die perioperativen Veränderungen des Immunsystems wurden präoperativ, nach Operationsende, am postoperativen Tag eins, vier und zehn erfasst. Es wurden multivariante nichtparametrische Analysen für longitudinale Daten nach oben genanntem Design durchgeführt. Maximal erscheinende Unterschiede zwischen den Gruppen wurden einzeln untersucht.

Die CRP-Werte lagen postoperativ oberhalb der Norm und in der Placebogruppe im Median höher als in der FXIII-Gruppe (siehe Abbildung 4). Mit der multivarianten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten wurde $p = 0,115$ für Gruppenunterschiede über die Zeit, $p < 0,001$ für systematische Änderungen über die Zeit und $p = 0,662$ für besondere Gruppenunterschiede in bestimmten Zeitabschnitten, also Wechselwirkungen errechnet (im Folgenden werden die p-Werte in gleicher Reihenfolge angegeben). Die maximal erscheinenden Unterschiede am ersten und vierten postoperativen Tag ergaben keine Signifikanz mit $p = 0,113$ (BE4) und eine schwache Tendenz höherer Werte in der Placebogruppe mit $p = 0,088$ (BE 5).

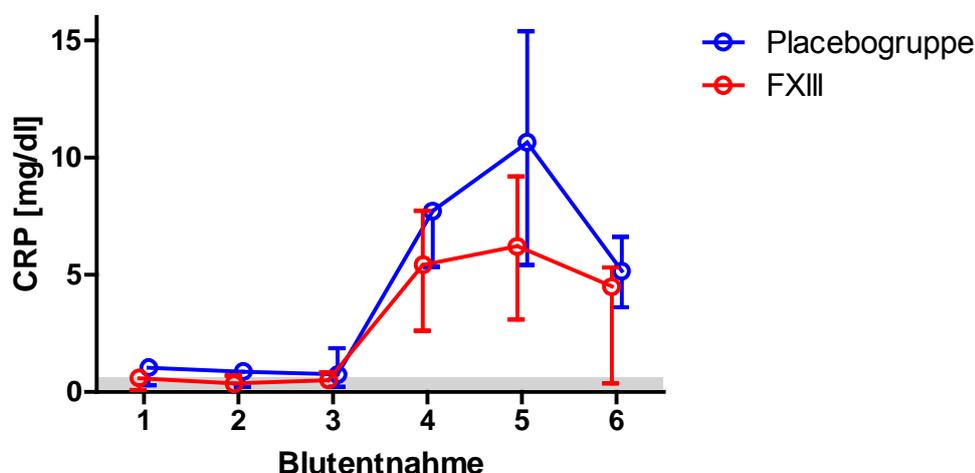


Abbildung 4: CRP, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, aufgeteilt nach Placebo- ($n = 10$) und FXIII-Gruppe ($n = 9$) im Verlauf, Normbereich ($< 0,5$ mg/dl) grau.

5.3.1 Leukozyten und deren Subpopulationen

Es zeigte sich eine postoperative Aktivierung des Immunsystems. Die Leukozytenzahlen waren präoperativ mit $6,6, 6,9 \pm 2,7$ (4,6/8,2); $6,3, 6,4 \pm 1,7$ (5,1/8) /nl (BE 1) im Normbereich (4,5-11 /nl) und stiegen postoperativ an, wobei die höchsten und zwischen

den Gruppen am unterschiedlichsten erscheinenden Werte mit $10,7$, $11,5 \pm 6$ ($7,3/14,1$); $15,5$, $15 \pm 3,3$ ($11,8/16,7$) /nl, $p = 0,051$, am postoperativen Tag eins gemessen wurden. Die Abbildung 5 zeigt den Vergleich der Leukozytenwerte aller Blutentnahmen. Mit der multivarianten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten ergab sich $p = 0,486$, $p < 0,001$ und $p = 0,038$.

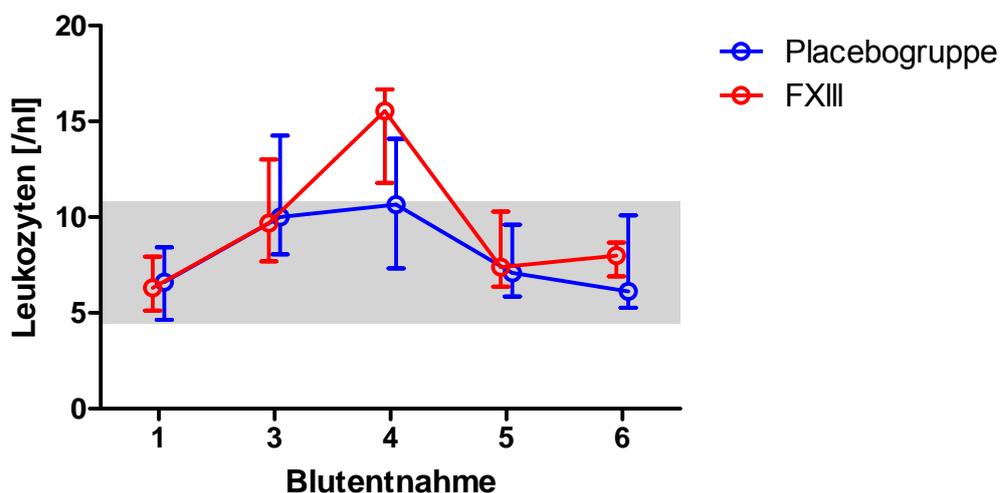


Abbildung 5: Leukozyten, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, aufgeteilt nach Placebo- ($n = 12$) und FXIII-Gruppe ($n = 11$) im Verlauf, Normbereich ($4,5-11$ /nl) grau.

Es zeigten sich perioperative Veränderungen der Lymphozyten insgesamt und der T-Zellen. Die absoluten Lymphozytenwerte (siehe Abbildung 6) lagen vor der Operation (BE 1) mit $1,36$, $1,6 \pm 0,8$ ($1,19/ 2,15$); $1,98$, $1,62 \pm 0,6$ ($1,16/2,23$) /nl, knapp unterhalb und innerhalb des Normbereichs von $1,4$ bis $3,7$ /nl. Unmittelbar postoperativ (BE 3) sanken die Werte unter die Norm auf $0,63$, $0,77 \pm 0,55$ ($0,34/0,98$); $0,41$, $0,9 \pm 0,8$ ($0,28/ 1,86$) /nl und stiegen bis zum zehnten postoperativen Tag auf $1,32$, $1,44 \pm 0,77$ ($1,1/1,94$); $1,55$, $1,31 \pm 0,8$ ($0,7/1,75$) /nl an. Die multivariante nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten ergab $p = 0,684$, $p < 0,001$ und $p = 0,503$. Der maximal erscheinende Unterschied am ersten postoperativen Tag (BE4) zeigte keine Signifikanz ($p = 0,349$).

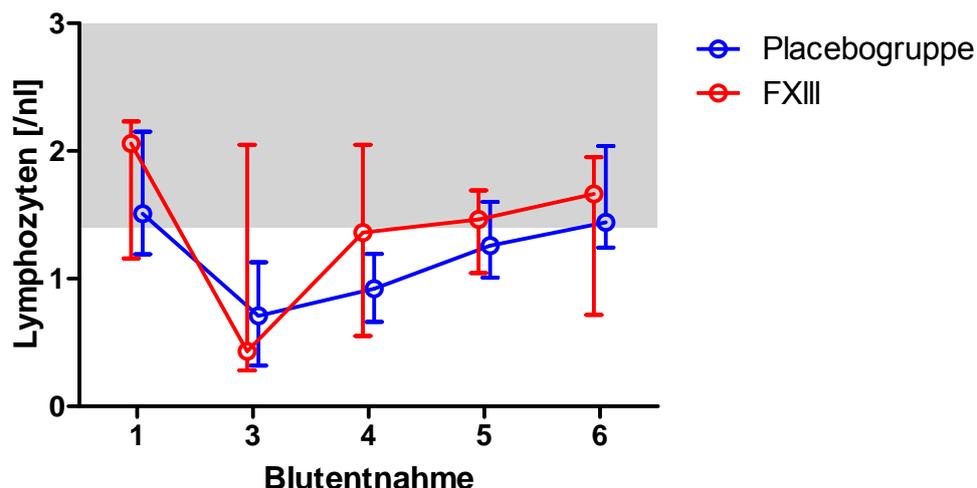


Abbildung 6: Lymphozyten (absolut) /nl, Vergleich von Placebo- (n = 11) und FXIII-Gruppe (n = 11) im Verlauf, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, Normbereich (1,4 - 3,7 /nl) grau.

Einem ähnlichen Verlauf folgten die T-Lymphozyten (CD3 positive Zellen) insgesamt (siehe Abbildung 7), wobei die Werte hier deutlicher noch unter dem Normbereich von 1,5-3 /nl lagen. Die multivariante nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten ergab $p = 0,933$, $p < 0,001$ und $p = 0,452$. Der maximal erscheinende Unterschied am vierten postoperativen Tag (BE 5) ergab mit $p = 0,378$ keine Signifikanz.

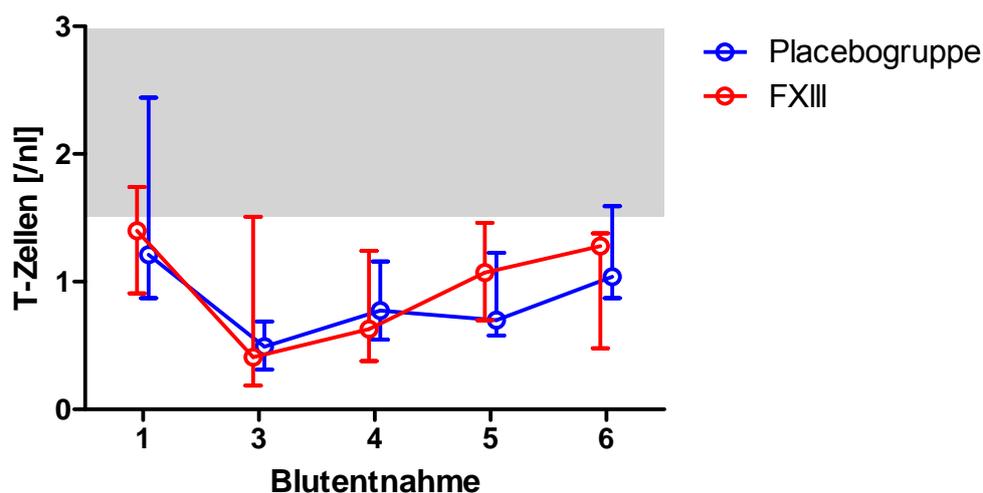


Abbildung 7: T-Zellen (absolut) /nl, Vergleich von Placebo- (n = 9) und FXIII-Gruppe (n = 9) im Verlauf, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, Normbereich (1,5-3,0 /nl) grau.

Abbildung 8 zeigt die absoluten Werte für CD16 positive NK-Zellen der einzelnen Blutentnahmen in und unterhalb des Normbereichs (grau unterlegt). Die multivariante nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten berechnete $p = 0,423$, $p < 0,001$ und $p = 0,162$. Der maximal erscheinende Unterschied zwischen den Gruppen am vierten postoperativen Tag (BE 5) ergab $p = 0,05$. Die Werte lagen hier bei $0,09$, $0,1 \pm 0,1$ ($0,06/0,15$); $0,16$, $0,17 \pm 0,1$ ($0,11/0,19$) CD16 positive NK-Zellen /nl.

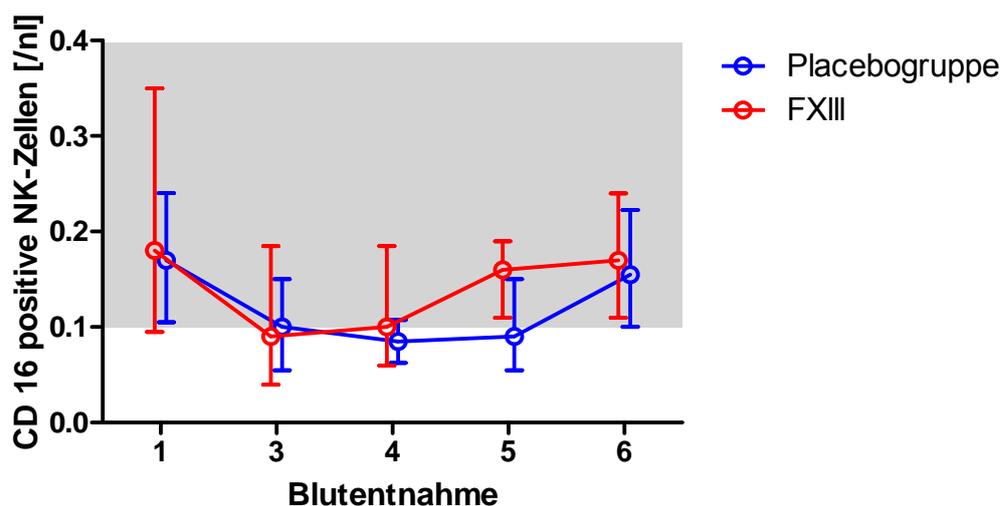


Abbildung 8: CD16 positive NK-Zellen /nl, Vergleich von Placebo- (n = 9) und FXIII-Gruppe (n = 9) im Verlauf, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, Normbereich (0,1-0,4 /nl) grau.

5.3.2 Marker für T-Zell-Aktivierung

Speziell für T-Zellen wurde der sIL-2-R untersucht. Abbildung 9 zeigt die Werte des sIL-2-R in IU/ml der einzelnen Blutentnahmen aufgeteilt nach Placebo- und FXIII-Gruppe. Alle Mediane liegen im grau dargestellten Normbereich. Die multivariante nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten ermittelte für sIL-2-R $p = 0,972$, $p = 0,012$ und $p = 0,771$. Weder bei BE 1 ($p = 0,224$) noch bei BE 5 ($p = 0,113$) erschien der Unterschied zwischen den Gruppen signifikant.

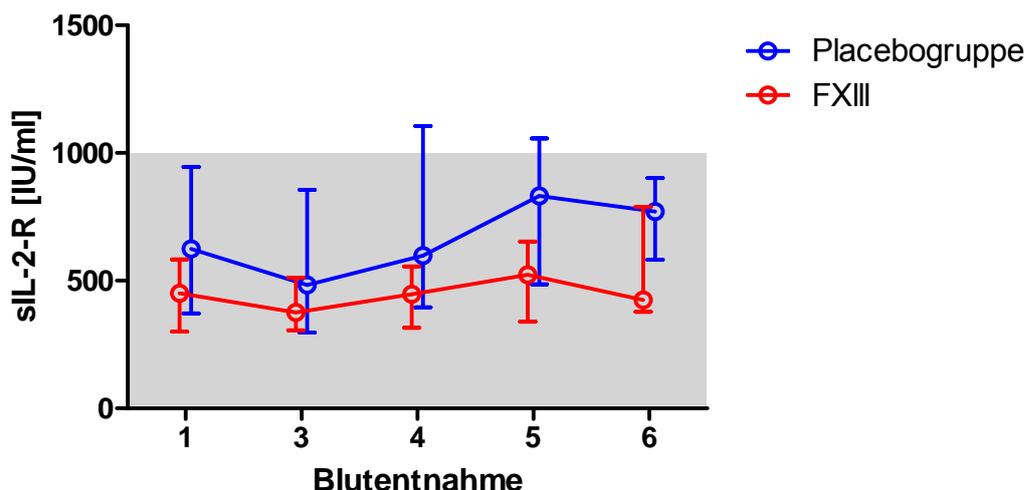


Abbildung 9: sIL-2-R im Verlauf (IU/ml), Vergleich zwischen Placebo- (n = 7) und FXIII-Gruppe (n = 9) im Verlauf, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, Normbereich (<1000 IU/ml) grau. Bei BE 5 wurde ein Wert der Placebogruppe weggelassen (12220 IU/ml).

Abbildung 10 zeigt den prozentualen Anteil der HLA-DR positiven Zellen an den CD8 positiven T-Zellen (akute T-Zell-Aktivierung) nach den Studiengruppen aufgeteilt. Der Normbereich wird grau dargestellt. Demnach lagen die Werte in der Placebogruppe über der Norm. Die multivariate nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mit $p = 0,279$, $p = 0,943$ und $p = 0,616$. Der maximal erscheinende Unterschied am ersten postoperativen Tag (BE 4) ergab mit $39, 40 \pm 25$ (32/42); $20, 24 \pm 16$ (16/30) %, $p = 0,059$, tendenziell auffällig höhere Werte in der Placebogruppe.

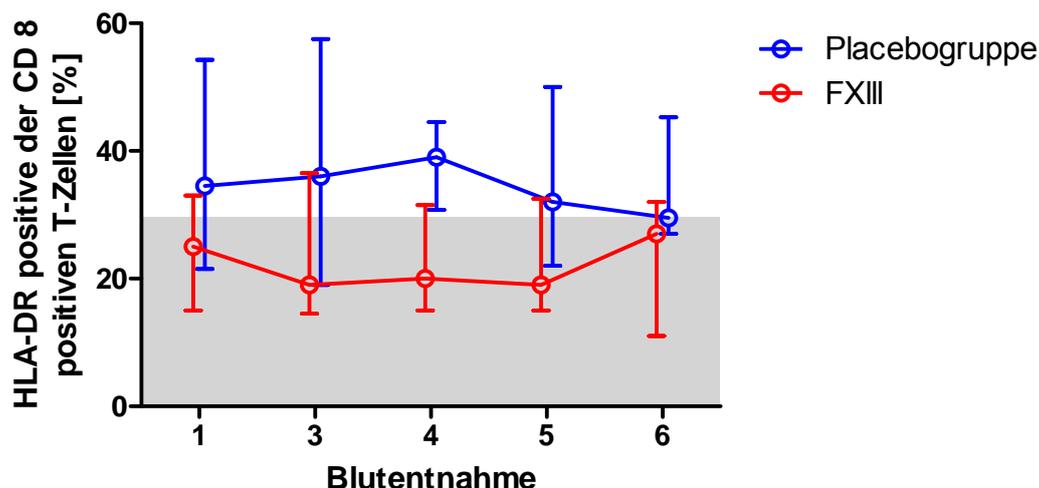


Abbildung 10: HLA-DR positive der CD8 positiven T-Zellen, Vergleich zwischen Placebo- (n = 9) und FXIII-Gruppe (n = 9) im Verlauf, Darstellung von Medianwerten und 25 %-75 %-Quartilen, Normbereich (< 30 %) grau.

Chronisch waren die T-Zellen aller Patienten bei allen Blutentnahmen im Median zwischen 30 und 50 % über die Norm aktiviert (CD57 positive in % der CD8 positive T-Zellen, normal < 30 %). Die multivariante nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten ergab mit $p = 0,601$, $p = 0,273$, $p = 0,812$ keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Placebo- n = 9, FXIII-Gruppe n = 9).

5.4 Krankenhausverweildauer bei Wundheilungsstörung

Die Patienten blieben 14, 15 ± 6 Tage in der Placebogruppe versus 12, 14 ± 7 Tage in der FXIII-Gruppe im Krankenhaus. Die Krankenhausverweildauer erschien nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Studiengruppen ($p = 0,413$). Die Krankenhausverweildauer war aber vom Auftreten von Wundheilungsstörungen im postoperativen Verlauf abhängig tendenziell unterschiedlich ($p = 0,05$). Sechs der sieben Patienten mit Wundheilungsstörungen verweilten 14 Tage oder länger im Krankenhaus.

In den Studiengruppen allein konnte der Unterschied der Krankenhausverweildauer bei Auftreten einer Wundheilungsstörung bei kleinen Stichprobenumfängen nicht bestimmt werden. Die folgende Abbildung 11 zeigt die resultierende Event-Kurve nach Kaplan-Meier. Die 16 Patienten ohne Wundheilungsstörung werden zensiert dargestellt,

wobei eine Linie bis zu vier Patienten darstellt. Der Unterschied der Kurven ist mit $p = 0,367$ nach dem log Rank-Test nicht signifikant.

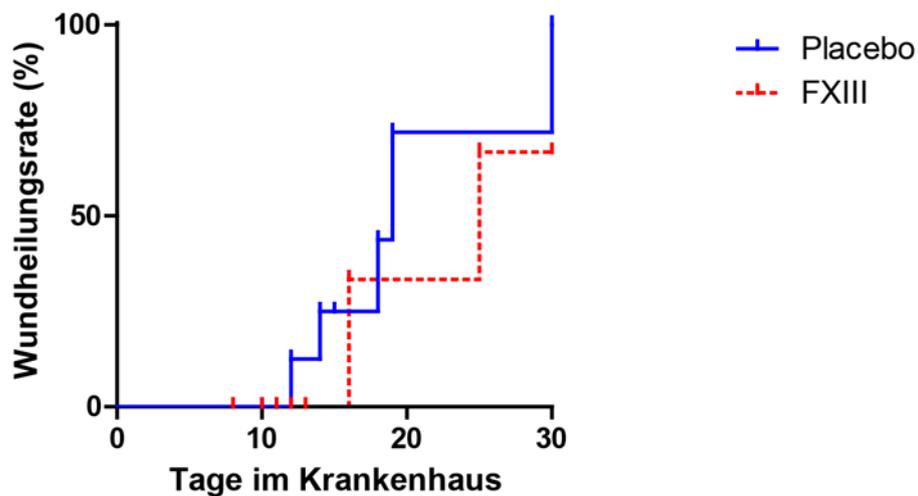


Abbildung 11: Krankenhausverweildauer und Wundheilungsstörungen. Darstellung der Wahrscheinlichkeit eine normale Wundheilung zu entwickeln (%) gegenüber der Krankenhausverweildauer (Tage). Patienten, die ohne eine Wundheilungsstörung zu entwickeln entlassen werden, sind zensiert ($n = 16$).

6 DISKUSSION

Innerhalb des Patientenkollektivs entwickelten 42 % der Patienten der Placebo- gegenüber 18 % der Patienten der FXIII-Gruppe eine Wundheilungsstörung. In der Placebogruppe traten drei Hämatome, ein Serom und eine Wunddehiszenz auf. Zwei Wunddehiszenzen wurden in der FXIII-Gruppe beobachtet. Trotz fehlender statistischer Signifikanz konnte die postoperative Wundheilung in der FXIII-Gruppe möglicher Weise durch die prophylaktische FXIII-Gabe verbessert werden.

Immunologisch zeigten sich geringe Unterschiede zwischen den beiden Gruppen, die statistisch nicht signifikant waren. Die CRP-Werte und die Leukozytenzahl waren in beiden Gruppen postoperativ erwartungsgemäß erhöht. In der FXIII-Gruppe war der CRP-Anstieg tendenziell geringer, jedoch kam es am ersten postoperativen Tag zu einer stärkeren Leukozytenaktivierung. Die Lymphozyten und T-Zellen fielen postoperativ ab und erholten sich bis zum zehnten postoperativen Tag. Es zeigten sich keine nennenswerten Gruppenunterschiede. In der FXIII-Gruppe kam es zu einem stärkeren Anstieg der NK-Zellen am vierten postoperativen Tag. Die T-Zell-Aktivitätsmarker (sIL-2-R und der Anteil an HLA-DR positiven in % der CD8 positiven T-Zellen) waren in der Placebo Gruppe tendenziell höher als in der FXIII-Gruppe, was auf eine stärkere Aktivierung hinweist. Ein Einfluss des FXIII auf das Immunsystem ist zu vermuten.

Es konnte eine Tendenz längerer Krankenhausverweildauern bei Auftreten einer Wundheilungsstörung festgestellt werden.

6.1 Vergleichbarkeit der Patientengruppen

Bezüglich Basisdaten, Alkohol- und Nikotinkonsum waren die Patientengruppen nicht unterschiedlich. Bei den präoperativ erhobenen alkoholismusrelevanten Parametern zeigten sich in der FXIII-Gruppe signifikant höhere ALT-Werte, da diese sich jedoch innerhalb des Normbereichs bewegten und daher vernachlässigbar sind, bleibt die Vergleichbarkeit der Gruppen erhalten.

Die durchgeführten Operationen erfolgten bei drei von fünf Patienten der Placebogruppe mit Wundheilungsstörung und einer von drei der FXIII-Gruppe beidseits (zweimal Hämatomgruppe, einmal Wunddehiszenzgruppe gegenüber dem Patienten

mit der Wundinfektion in der FXIII-Gruppe). Den eigenen Daten nach ist der Einfluss der beidseitig durchgeführten Operation deskriptiv nicht eindeutig. Es fand sich keine Literatur zum Vergleich der Häufigkeit von Wundheilungsstörungen bei ein- versus beidseits durchgeführten Neck Dissections.

Es wurden vier rekonstruktive Operationen durchgeführt. Bei Patient Nr. 19 (Placebogruppe) wurde ein Fibulatransplantat operiert und es zeigte sich eine Wunddehiszenz im Verlauf, während drei Patienten mit Radialislappen (FXIII-Gruppe) keine Wundheilungsstörung zeigten. In der eigenen Studie ist deskriptiv kein Einfluss der Rekonstruktion auf die Wundheilungsstörungen zu finden.

Es war auffällig, dass beide Patienten im Stadium T4 und sonst nur Patienten des Stadiums T2 Wundheilungsstörungen aufwiesen. Die Tumorstadien waren in beiden Gruppen aber ähnlich verteilt. Aufgrund der ähnlichen Verteilung der Tumorstadien in beiden Gruppen, ergab sich keine Veränderung in der Vergleichbarkeit.

Bekannte Risikofaktoren für die Entwicklung einer Wundheilungsstörung wie Diabetes mellitus, das Geschlecht Adipositas und Arteriosklerose waren in unserem Patientenkollektiv vernachlässigbar. Bekannte Gerinnungsstörungen galten als Ausschlusskriterium für die Studienteilnahme. Weitere Risikofaktoren, wie Hypoxie, Stress und NSAR-Einnahme wurden nicht erfasst [21]. Insgesamt waren die Studiengruppen bezüglich Basisdaten und Risikofaktoren für Wundheilungsstörungen gut vergleichbar.

6.2 Faktor XIII: positiver Einfluss auf die Wundheilung

Bei insgesamt sieben von 23 Patienten traten Wundheilungsstörungen auf, wobei nicht signifikant unterschiedlich zwei der elf Patienten in der FXIII-Gruppe und fünf der zwölf Patienten in der Placebogruppe betroffen waren. Insgesamt entwickelten 30,4 % der Patienten eine Wundheilungsstörung. Damit war in unserem Patientenkollektiv die Rate an Wundheilungsstörungen insgesamt eher gering, was die Beurteilbarkeit der FXIII-Wirkung erschwert.

Eine in der Einleitung erwähnte Studie erfasste bei 530 Patienten nach oropharyngealer Tumoroperation 33 % an Wundinfektionen, 26 % Wunddehiszenzen, 5,5 % Serome und in 5,5 % der Fälle Nachblutungen und Hämatome. Die Diagnose Wundinfekt wurde bei anhaltend fördernden Drainagen und Fistelbildung oder bei Entzündungszeichen durch einen Chirurgen gestellt. Alkoholkonsum wurde als

Risikofaktor für postoperative Komplikationen genannt ($p = 0,003$). Keiner der Patienten war vor der Operation bestrahlt worden [6], Insgesamt lag die Rate der postoperativen Komplikationen bei knapp 60 % der Patienten, so dass davon auszugehen ist, dass es Überschneidungen bei den Diagnosen gab. Trotz der dadurch eingeschränkten Vergleichbarkeit, lag die Wundheilungsstörungsrate der FXIII-Gruppe in der eigenen Studie deutlich niedriger, wenn allein die Wunddehiszenzen, Serome und Blutungsereignisse (37 %) verglichen werden. Hier sind zentrumspezifische Unterschiede der Wundheilungsbedingungen zu vermuten, die sich nicht durch die angegebenen Risikofaktoren erklären.

In einer anderen Studie mit 91 Patienten, die eine Neck Dissection erhielten, wiesen 27,5 % der Patienten eine Wundheilungsstörung auf. Wie die Wundheilungsstörungen diagnostiziert wurden, wird nicht aufgeführt. Es gibt keine genauen Informationen zum Alkoholkonsum der Patienten. Beschrieben wird, dass 22 % der Patienten präoperativ bestrahlt wurden [49]. Der Begriff Wundheilungsstörung ist nicht einheitlich definiert, so dass Wundheilungsstörungsraten eingeschränkt vergleichbar sind. Die niedrigere Wundheilungsstörungsrate in der FXIII-Gruppe könnte darauf hinweisen, dass FXIII einen positiven Einfluß auf die Wundheilung hat, jedoch konnte dies nicht signifikant nachgewiesen werden.

6.2.1 Faktor XIII vermindert das Auftreten von Hämatomen und Seromen

Hämatome zeigten sich nur in der Placebogruppe. Sie traten in zwei Fällen am ersten postoperativen Tag auf. Das dritte Hämatom wurde erst am vierten postoperativen Tag entdeckt. Der Zeitpunkt des Auftretens der Hämatome im Zeitraum zwischen 12 und 36 Stunden war pathognomonisch für FXIII-Mangel-Blutungen. Anhaltende Blutungen oder Hämatome nach Trauma sind charakteristisch bei FXIII-Mangel [29]. Beim spät entdeckten Hämatom war unklar, wann es entstand. Die Wunde wurde bei Schwellung am vierten postoperativen Tag eröffnet, aber das Hämatom war schon älter, so dass auch diese Blutung als typisch einzuordnen ist.

Häufigere Hämatome in der Kontrollgruppe zeigten sich auch in einer früheren Studie an der Charité zur Prophylaxe von Wundheilungsstörungen nach Tumorresektion im Kopf-Hals-Bereich. Es wurden 37 Patienten untersucht, von denen randomisiert 20 prophylaktisch 1250 IE Fibrogammin® am zweiten, vierten und sechsten postoperativen Tag erhielten. Über die Hälfte der Kontrollgruppe zeigte diffuse

Nachblutungen, Hämatome oder Lymphansammlungen, während in der Studiengruppe nur 20 % der Patienten betroffen waren. Die Menge der Blutproduktesubstitution erwies sich als Risikofaktor für eine Wundheilungsstörung [50].

Die Werte für Thrombozyten, PTT und Quick waren nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen und jederzeit im therapeutischen oder Normbereich. Die Körpertemperaturen der Patienten mit Hämatomen waren zum Operationsende normal. Hier lassen sich keine weiteren Risikofaktoren für Hämatome finden, die die Häufung erklären.

Blutungskomplikationen in Form von intraoperativen Transfusionen traten doppelt so häufig in der Placebogruppe auf. Ein Patient der Placebogruppe (Patient Nr. 6) erhielt drei EKs und entwickelte ein postoperatives Hämatom. Der zweite Patient der Placebogruppe, der eine Transfusion erhielt, wies bereits präoperativ einen Hb-Wert von 9,7 g/dl auf, entwickelte aber keine Wundheilungsstörung. Der dritte transfundierte Patient (FXIII-Gruppe) entwickelte eine Wunddehiszenz mit Lymphödem. Eine statistische Auswertung bezüglich der Bedeutung von Transfusionen erschien bei nur drei Patienten nicht sinnvoll.

Aktuelle Literatur unterstützt die These, dass eine FXIII-Konzentrat-Gabe postoperative Blutungen reduzieren kann. Die zwei erwähnten klinischen Studien zu dem Thema an insgesamt nur 100 Patienten waren aber nicht primär auf die Evaluation des Blutverlustes ausgerichtet. Die FXIII-Gabe erfolgte nach einem festen Schema. Bei besonders niedrigen FXIII-Werten wurde die Substitution nicht angepasst [51]. Eine Studie mit 409 Patienten zeigte 2013 keinen Effekt von FXIII-Gabe auf die Transfusionsrate nach kardiochirurgischen Operationen. Alle Patienten wiesen ein moderates Risiko für einen Transfusionsbedarf auf. Wieder wurde die Substitution nicht auf niedrige FXIII-Level abgestimmt und an zwei teilnehmenden Zentren war die Transfusionsrate insgesamt unerwartet niedrig [52]. Die Erhöhung der FXIII-Level scheint nicht zwangsläufig Blutungen zu verhindern. Offen bleibt, wie sich die FXIII-Substitution bei sehr niedrigem FXIII-Level auf die Blutungsrate auswirkt. Patienten mit AUD stellen insofern ein besonderes Patientenkontingent dar, bei dem eine FXIII-Gabe eventuell die Blutungsrate beeinflusst, weil wahrscheinlich niedrigere FXIII-Level vorliegen.

Es trat nur ein Serom in der Placebogruppe auf, was auch für eine Seromprävention durch FXIII spricht. In der Literatur fanden sich viele Untersuchungen zum Einsatz von FXIII als Bestandteil von Fibrinkleber bei Brustoperationen, wo sich besonders häufig

Serome bilden. Allerdings zeigt eine Metaanalyse von 2013 mit 1252 Patienten aus 18 Studien keine eindeutige Empfehlung für den Einsatz. Nur die Seromenge und -behandlungsdauer konnten verringert werden [53]. Es gab keine Studien, die die Wirkung von FXIII-Konzentratgabe mit dem Einsatz von Fibrinkleber, der FXIII enthält, vergleichen. Ob FXIII-Konzentratgabe Serome verhindert, wurde in der Literatur bisher nicht gezeigt. Theoretisch erscheint es sinnvoll den Austritt seröser Flüssigkeit analog zur Hämatombildung durch festere Wundstrukturen zu verhindern.

6.2.2 Faktor XIII, Wunddehiszenzen und -infekte

Die Wunddehiszenz stellte in unserem Patientenkollektiv neben den Hämatomen die häufigste Ursache für eine Wundheilungsstörung dar. Hier war ein Patient in der Placebogruppe und zwei Patienten in der FXIII-Gruppe (4,3 % versus 8,7 % aller Patienten). Ein Patient der FXIII-Gruppe hatte in der Vorgeschichte bereits eine Strahlentherapie im Operationsgebiet erhalten, was die Wundheilung nachhaltig beeinträchtigen kann [21]. Vom Patienten der Placebogruppe sind keine Risikofaktoren bekannt, die nicht auch bei den anderen Patienten mit Wunddehiszenz vorlagen (Alkoholkonsum, Nikotinkonsum, Tumorerkrankung). Die Frage, ob FXIII einen Einfluss auf Wunddehiszenzbildung hat, kann anhand von nur drei betroffenen Patienten nicht beantwortet werden.

In einer Studie mit zehn Patienten mit Wunddehiszenzen nach Neck Dissection profitierten die Patienten von einer postoperativen FXIII-Substitution. Bei Auftreten einer Wundheilungsstörung wurde trotz normal bis niedriger FXIII-Level im Blut drei Tage lang dreimal täglich 1250 IE FXIII verabreicht. Die Dehiszenzen waren nach einer Woche abgeheilt [54]. Richardson et al. fassten 2013 in einem Review die Bedeutung von FXIII für die Wundheilung zusammen. Der Einfluss von FXIII auf das Crosslinking von Matrixproteinen ist insbesondere in Bezug auf Fibronectin, Kollagen und von-Willebrand-Faktor für Zell-Matrix-Interaktionen entscheidend. Durch eine Quervernetzung von PAI-2 und Plasminogen an Matrix bei Gefäßverletzung wird die Plasminentstehung lokalisiert und Matrixmetalloproteinasen vor Ort aktiviert. Klinisch war der Wundverschluss bei einer FXIII-Knock-out-Maus postoperativ um 27 % vermindert. Es bildeten sich vermehrt Nekrosen und die Reepitheliasierung erfolgte verzögert [55], was eine Wunddehiszenz bedeuten kann. Theoretisch kann FXIII also Wunddehiszenzen verhindern.

Im Studienzeitraum bis zum zehnten postoperativen Tag trat keine Wundinfektion beobachtet. Stopinski et al. zeigten 1993, dass bei mehr als 60 g Alkohol pro Tag Wundinfektionen vierfach häufiger auftreten. Dabei wurden in $60 \pm 12,6$ % der Fälle mit diesem Alkoholkonsum postoperative Wundinfektionen ermittelt [2]. Eine Studie, die Alkohol als Risikofaktor über die Wundkontamination stellte, zeigte nur in 5,3 % Wundinfektionen nach CDC-Kriterien bei sauberen Operationen. Viele Wundinfektionen wurden dabei erst im einmonatigen Follow-up nach Entlassung gefunden [56]. Somit relativiert sich die hohe Rate an Wundinfektionen bei Stopinski et al., da dort Wundinfektionen nach einem eigenen Schema und nicht nach CDC-Kriterien dokumentiert wurden. Das Schema bestand aus Beobachtung, erstens eines geröteten Stichkanals oder einer geröteten Drainageaustrittsstelle, zweitens eines subkutanen oder drittens eines subfaszialen Verhaltens [2]. Bei den CDC-Kriterien wird aber viel Wert auf den Erregernachweis gelegt, der bei nur oberflächlicher Rötung nicht zu gewinnen ist. So ist zu vermuten, dass bei Stopinski et al. nach CDC-Kriterien weniger Wundinfektionen dokumentiert worden wären [24]. In der vorliegenden Studie wurden keine Wundinfektionen beobachtet. Da Wundinfektionen häufiger sekundär bei Hämatom- und Serombildung auftreten [24], ist eine Verhinderung von Wundinfektionen durch FXIII mittels des oben gezeigten Verhinderns von Hämatomen und Seromen wahrscheinlich.

6.3 Perioperative Immunparameter

In beiden Gruppen zeigten sich bei Leukozyten, Lymphozyten insgesamt und NK-Zellen präoperativ im Median keine Abweichungen der Zellzahlen von der Norm, während die T-Zellen unter der Norm lagen. Die Anzahl der CD57 positiven der CD8 positiven T-Zellen (chronische Aktivierung) war präoperativ in beiden Gruppen erhöht. Vermehrt chronisch aktivierte CD8 positive T-Zellen weisen auf eine verminderte Immunfunktion hin [43]. Das Studienkollektiv war also präoperativ in der Immunfunktion eingeschränkt.

Ursächlich kommen hierfür der erhöhte Alkoholkonsum und die maligne Grunderkrankung in Frage. Cook fasste in einem Review 1998 zusammen, dass eine T-Zellaktivierung noch einige Zeit nach Alkoholkonsum nachzuweisen ist. Unter chronischem Alkoholeinfluss liegt häufig eine Monozytose vor, wobei die Monozyten in der Funktion gestört sind und vermindert T-Lymphozyten stimulieren. CD8 positive T-Zellen mit HLA-DR- sowie CD57-Expression treten anteilig häufiger auf und naive T-

Zellen wandeln sich eher in Memory-T-Zellen um [57, 58]. In einem Review von 2002 werden verminderte Lymphozyten- und NK-Zell-Funktion, sowie generell eine Abschwächung der Zell-vermittelten Immunantwort als typisch für Menschen mit AUD beschrieben [59]. Eine Verminderung der T-Zellen wird auch bei Lau et al., 2009, als typisch für Patienten mit chronischem Alkoholkonsum aufgeführt [60].

Der Einfluss der malignen Grunderkrankung auf das Immunsystem scheint bei den Studienpatienten vernachlässigbar zu sein. Baskic et al., 2013, untersuchten 51 Patienten mit einem Tumor im HNO-Gebiet. Sie fanden, dass vor allem NK- und dendritische Zellen eine tumorizide Wirkung ausüben. Bei maligner Grunderkrankung werden NK-Zellen im peripheren Blut spontan apoptotisch [61]. Die NK-Zell-Zahlen lagen präoperativ im Normbereich. Hier findet sich kein Hinweis auf einen Einfluss der malignen Grunderkrankung auf das Immunsystem. Es lässt sich zusammenfassen, dass die Patienten der eigenen Studie präoperativ immungeschwächt waren und dass dies ursächlich auf den erhöhten Alkoholkonsum zurückzuführen war.

6.3.1 Faktor XIII verbessert postoperative Entzündungsreaktion

In der FXIII-Gruppe kam es am ersten postoperativen Tag zu einem starken Anstieg der Leukozytenzahl. Die multivariante nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten bestätigt, dass nur der erste postoperative Tag eine signifikante Abweichung zeigte. Leukozyten sind für den Beginn der Wundheilung essentiell. Vor allem die neutrophilen Granulozyten sind am ersten Tag wichtig für die Wundreinigung [40] und sollten in diesem Zusammenhang weiter untersucht werden.

Die Entwicklung der CRP-Werte zeigte eine schwache Tendenz höherer Werte in der Placebogruppe am vierten postoperativen Tag. Die CRP-Konzentrationen fielen in beiden Gruppen zwischen dem vierten und zehnten postoperativen Tag ab. Bei CRP-Werten über 4 mg/dl kann nach oropharyngealer Tumoroperation ab dem dritten postoperativen Tag kann von einem „delayed decrease“ gesprochen werden, der auf einen frühen Wundinfekt hindeuten kann [26]. Das Risiko der Patienten postoperativ eine Wundinfektion zu entwickeln war also insbesondere in der Placebogruppe erhöht.

Die Anzahl der NK-Zellen im Blut war am vierten postoperativen Tag in der FXIII-Gruppe tendenziell höher. Dabei waren die Werte der Placebogruppe noch unter der Norm, der FXIII-Gruppe im Verlauf bereits wieder in der Norm. Das postoperative Absinken der Werte im Blut kann neben einem operationsbedingten Blutverlust auch

durch Einwanderung in das Wundgebiet verursacht worden sein. Die anhaltende Reduktion der NK-Zellen in der Placebogruppe am vierten postoperativen Tag ist möglicher Weise ein Zeichen für eine stärkere Gewebereaktion. Brubaker et. al, fassen 2011 in einem Review zusammen, dass NK-Zellen über eine Abschwächung der Wundregulierung durch Granulozyten die erste Phase der Wundheilung beeinflussen können. Dies kann bedeuten, dass die Leukozyten wundheilungsfördernd reguliert werden, allerdings war der Wundverschluss in Anwesenheit von NK-Zellen verlangsamt. Wenn NK-Zellen fehlten, war in der frühen Wundheilung mehr Kollagen vorhanden [62]. Demnach könnte der höhere Wert in der FXIII-Gruppe am vierten postoperativen Tag eine Reaktion auf die bis dahin höheren Leukozyten darstellen. Der Verlauf der NK-Zellen unterstützt die These einer immunologischen Grundlage einer besseren Wundheilung in der FXIII-Gruppe, wenn davon ausgegangen wird, dass niedrigere Zellzahlen im Blut höhere Gewebelevel darstellen.

6.3.2 FXIII vermindert Immunsuppression

Die multivariante nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten ergab für die Zahlen der Lymphozyten und T-Zellen in beiden Gruppen signifikante Unterschiede der Werte im Verlauf. Die Lymphozyten zeigten direkt postoperativ eine Verminderung, die sich durch Blutverlust und intraoperative Blutverdünnung durch Infusionen erklärt. Die Lymphozyten lagen am zehnten postoperativen Tag wieder knapp im Normbereich, die T-Lymphozyten noch darunter. Bei den absoluten Zellzahlen für Lymphozyten und T-Zellen gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen.

Bei den T-Zellmarkern gab es geringfügige Hinweise auf Gruppenunterschiede. Rein deskriptiv lagen sIL-2-R und HLA-DR positive in % der CD8 positiven T-Zellen (akute Aktivierung) in der Placebogruppe zu allen Zeitpunkten höher. Beim sIL-2-R gab es in der multivarianten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten signifikante systematische Änderungen über die Zeit in beiden Gruppen, was für eine postoperativ zunehmende T-Zellaktivierung unabhängig von der Gruppeneinteilung spricht. HLA-DR positive in % der CD8 positiven T-Zellen zeigten am ersten postoperativen Tag tendenziell höhere Werte in der Placebogruppe, was eine stärkere akute Aktivierung der CD8 positiven T-Zellen bedeutet, auch wenn es hier in der multivarianten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten keine Signifikanzen gab. Es gibt wenige Untersuchungen dieser beiden Parameter im Zusammenhang mit

Wundheilung. In einem eingangs erwähnten Review wurde den Lymphozyten eine Bedeutung bei der Wundheilung zugesprochen. CD8 positive T-Zellen verminderten bei Ratten die Reißfestigkeit von Wunden und Kollagenlevel [40]. Chen et al. widerlegten dies 2014 in einer Studie an CD8 depletierten Mäusen. Während in Wildtyp-Mäusen ab dem dritten Tag nach Verletzung CD8 positive T-Zellen in der Wunde zu finden waren, erschienen sie bei depletierten Tieren erst am siebten Tag. Am ersten postoperativen Tag waren in den depletierten Tieren signifikant weniger neutrophile Granulozyten in der Wunde zu finden. Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut, der fotografisch dokumentierte Wundverschluss, die mittels Tensiometer gemessene Reißfestigkeit und die Hydroxyprolinlevel als Marker für Kollagen in der Wunde waren nicht unterschiedlich. Die Autoren schlussfolgerten, dass CD8 positive T-Zellen die Immunreaktion in der Wunde, aber nicht das Wundheilungsergebnis beeinflussen [63]. Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien lassen sich aber nur bedingt auf den Menschen übertragen. In einer Studie an HLA-DR positiven CD8 positiven T-Zellen, die aus Patienten mit Lungenkrebs isoliert und in Zellkulturen untersucht wurden, konnte eine Immunsuppression durch diese Zellen auf mononukleäre Zellen im peripheren Blut nachgewiesen werden [64]. Mononukleäre Zellen, also Leukozyten, sind wichtig für die Wundheilung, wie oben aufgeführt. FXIII verbesserte somit tendenziell die Immunfunktion der Studienpatienten durch Verminderung der HLA-DR positiven CD8 positiven T-Zellen. Dieses Ergebnis entspricht den höheren Leukozytenwerten in der FXIII-Gruppe als bessere Immunreaktion am ersten postoperativen Tag.

6.4 Wundheilungsstörungen verlängern Krankenhausverweildauer

Die Wundheilungsstörungen bedingten tendenziell eine längere Krankenhausverweildauer. Ein Zusammenhang zwischen FXIII-Gabe und der Krankenhausverweildauer konnte aber nicht gezeigt werden, da die Gruppen zu klein waren.

Die Applikation von FXIII als Bestandteil von Fibrinkleber wurde in zahlreichen Studien beschrieben und bewirkte eine verbesserte Wundheilung. Inzwischen gibt es weit mehr als 3000 Artikel zum Einsatz von diesem bei Operationen, wie ein Review von 2010 zeigte [65]. In einem Review von Anfang 2012 wurde auch ein Einfluss auf die Krankenhausverweildauer gezeigt. Bei 5993 Hernienoperationen mit Netzplastiken verkürzte Fibrinkleber die Krankenhausverweildauer von 2,5 auf 1,8 Tage, was allerdings nicht signifikant erschien [66].

Die Krankenhausverweildauer bei zumeist Neck Dissection betrug in einer oben schon erwähnten Studie mit 530 Patienten ohne Komplikationen im Durchschnitt 7,1 Tage und mit Komplikationen 11,9 Tage [6]. Die Patienten der eigenen Studie blieben mit Komplikationen im Vergleich ein bis zwei Tage länger. Eine deutsche Studie zu Einflussfaktoren auf den Erfolg einer mikrovaskulären Rekonstruktion nach Tumorexzision im HNO-Bereich mit Neck Dissection bei 358 Patienten gibt eine durchschnittliche Verweildauer von $16 \pm 0,5$ Tagen auf Normalstation an [67]. Da die eigenen Studienpatienten meist keine mikrovaskuläre Rekonstruktion erhielten, war die Krankenhausverweildauer im deutschen Vergleich als normal anzusehen.

6.5 Limitationen der Studie

Sehr viele Faktoren beeinflussen die Wundheilung. Ein sensibler Punkt der Studie ist daher die geringe Fallzahl aufgrund Schwierigkeiten bei der Rekrutierung von Patienten. Eine Ursache für eine mangelnde Bereitschaft von Patienten an der Studie teilzunehmen, könnte dabei in der Angst vor einer Stigmatisierung gelegen haben. So geben Patienten und Angehörige einen erhöhten Alkoholkonsum häufig nicht richtig oder gar nicht an. Die Rate der detektierten Patienten steigt bei evidenzbasierter Befragung und ist mit dem oben erwähnten Fragebogen AUDIT verbunden. Der Fragebogen wurde zwar bei Aufnahme durchgeführt, zog aber nicht regelmäßig die Teilnahme eines Patienten nach sich. Eventuell spielten der Zeitaufwand und die damit verbundenen Unannehmlichkeiten für die Patienten eine Rolle [68]. Die geringe Fallzahl schränkte die Möglichkeiten der statistischen Auswertung der erhobenen Daten ein.

In den oben erwähnten Studien war FXIII einmal bei 20 Patienten niedriger [50] und einmal mit dreimal täglicher Gabe bei 10 Patienten höher dosiert [54]. Ob FXIII in der eigenen Studie nicht hoch genug dosiert wurde und der Effekt daher zu gering war, lässt sich hieraus nicht schlussfolgern, ist aber möglich.

Transfusionen beeinflussen können das Immunsystem beeinflussen [69]. Hiervon war mit zwei Patienten besonders die Placebogruppe betroffen. Diese Patienten waren aber auch eher anäm. Nachdem die Bedeutung von Transfusion versus Anämie für das postoperative Outcome und die Immunologie in der aktuellen Forschung nicht abschließend geklärt ist [70], kann der Einfluss beider Faktoren auf die Wundheilung angesichts der kleinen Fallzahl in der eigenen Studie nicht abgeschätzt werden. Ob

auch Placebogabe einen Einfluss auf das Immunsystem und damit die Wundheilung hat, ist unklar, aber möglich [71].

Die immunologischen Vorgänge bei der Wundheilung sind anfangs vor allem lokal. Die Untersuchung der Zellzahlen im Blut spiegeln das Geschehen vor Ort mit Verzögerung [72]. Es wäre günstig in weiteren Studien eine genauere Untersuchung und standardisierte Erfassung der lokalen Wundheilung durchzuführen, was eventuell nur tierexperimentell möglich ist.

6.6 Ausblick

Ichinose zeigte in einem Review 2012, dass sich neue Funktionen für FXIII ergeben. Über Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease (MASP)-1 wird Fibrin auf Mikroorganismen fixiert und kann von FXIII quervernetzt werden. So kommt es zu einer Absonderung von Bakterien wie *Escherichia coli* und *Staphylokokkus aureaus* in Gerinnseln. Die Bakterien werden immobilisiert und können vernichtet werden. In Biopsien vom Menschen wurde dieses Zusammenwirken zwischen Gerinnungs- und Immunsystem bestätigt. Vermutlich spielt zellulärer FXIII-A in Makrophagen und neutrophilen Granulozyten eine Rolle für ihre Phagozytosefähigkeit. FXIII-B scheint spezielle Regionen zu enthalten, die direkt an Gram-positive Bakterien binden können. Nicht zuletzt gibt es Hinweise für die Bedeutung von FXIII für die Lokalisierung einer Infektion über die Bindung von Monozyten an Thrombozyten [73]. FXIII-A bewirkt eine Verminderung von Thrombospondin-1. Hieraus ergibt sich eine Förderung der Angiogenese durch fehlende Hemmung von endothelialen Zellen [74]. Dies stellt eine Erklärung für die unter FXIII verbesserte Angiogenese dar [37]. Ein neuerer Hinweis auf das Zusammenwirken von Gerinnungs- und Immunsystem ist, dass FXIII-A den antifibrinolytisch wirksamen Komplementfaktor C3 in Gerinnseln quervernetzt [51].

Die eigenen Ergebnisse zeigen insgesamt keine signifikante Reduktion der Wundheilungsrate, aber Hämatome und Serom zusammen traten etwas häufiger in der Placebogruppe auf. Es gibt Hinweise auf einen Einfluss der Gabe von FXIII-Konzentrat auf die Leukozyten und NK-Zellen und dadurch eine verbesserte Wundheilung. Der wechselseitige Zusammenhang von Gerinnungs- und Immunsystem insbesondere auch bei Patienten mit hohem Alkoholkonsum und dadurch veränderten Immunantworten erfordert weiteren Forschungsbedarf.

7 LITERATURVERZEICHNIS

1. Tonnesen H. The alcohol patient and surgery. *Alcohol Alcohol* 1999;34(2):148-52.
2. Stopinski J, Staib I and Weissbach M. Do nicotine and alcohol abuse effect the occurrence of postoperative bacterial infections? *Langenbecks Arch Chir* 1993;378(2):125-8.
3. Tonnesen H. Influence of alcohol on several physiological functions and its reversibility: a surgical view. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1992;369:67-71.
4. Tonnesen H and Kehlet H. Preoperative alcoholism and postoperative morbidity. *Br J Surg* 1999;86(7):869-74.
5. Spies C, von Dossow V, Eggers V, et al. Altered cell-mediated immunity and increased postoperative infection rate in long-term alcoholic patients. *Anesthesiology* 2004;100(5):1088-100.
6. de Cassia Braga Ribeiro K, Kowalski LP and Latorre Mdo R. Perioperative complications, comorbidities, and survival in oral or oropharyngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129(2):219-28.
7. Harris AHS, Frey MS, DeBenedetti AF, et al. Alcohol Misuse Prevalence and Associations with Post-Operative Complications in US Surgical Patients: A Review. *The Open Surgery Journal* 2008;2:50-8.
8. Schutze M, Boeing H, Pischon T, et al. Alcohol attributable burden of incidence of cancer in eight European countries based on results from prospective cohort study. *BMJ* 2011;342:d1584.
9. Spies C, Neuner B, Neumann T, et al. Intercurrent complications in chronic alcoholic men admitted to the intensive care unit following trauma. *Intensive Care Med* 1996;22(4):286-93.
10. Loewy AG, McDonagh J, Mikkola H, et al. Structure and function of factor XIII. In: *Hemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. Philadelphia: Lippincott, 2001:233-48.
11. Sander M, Neumann T, von Dossow V, et al. Alkoholabusus. *Internist* 2006;47:332-41.

12. Ostermann H. Biochemie und Funktion des Faktors XIII. In: Klinische Aspekte des Faktor-XIII-Mangels. Diagnostik, klinische Relevanz, klinische Forschung. Basel: Karger, 1999:1-6.
13. Kloczko J, Wereszczynska U, Wojtukiewicz M, et al. Fibrin stabilization, factor XIII transamidase activity and subunits "A" and "B" concentration in plasma of patients with liver cirrhosis. *Folia Haematol Int Mag Klin Morphol Blutforsch* 1986;113(4):539-44.
14. Suchocki EA and Brecher AS. The effect of acetaldehyde on human plasma factor XIII function. *Dig Dis Sci* 2007;52(12):3488-92.
15. Godje O, Haushofer M, Lamm P, et al. The effect of factor XIII on bleeding in coronary surgery. *Thorac Cardiovasc Surg* 1998;46(5):263-7.
16. Gerlach R, Raabe A, Zimmermann M, et al. Factor XIII deficiency and postoperative hemorrhage after neurosurgical procedures. *Surg Neurol* 2000;54(3):260-5.
17. Saito H, Fukushima R, Kobori O, et al. Marked and prolonged depression of factor XIII after esophageal resection. *Surg Today* 1992;22(3):201-6.
18. Kerawala CJ and Heliotos M. Prevention of complications in neck dissection. *Head Neck Oncol* 2009;1:35.
19. Maurer J and Lippert BM. Hals, Schilddrüse und Oesophagus. Halsweichteile. Neck Dissection. In: *Praxis der HNO-Heilkunde, Kopf- und Halschirurgie*. Stuttgart: Thieme, 2010:731-38.
20. Mönig H, Harbeck B and Lehnert H. Sonographie der Schilddrüse. *Dtsch med Wochenschr* 2010;135(15):765-70.
21. Guo S and Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res* 2010;89(3):219-29.
22. Kurz A, Sessler DI and Lenhardt R. Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical-wound infection and shorten hospitalization. Study of Wound Infection and Temperature Group. *N Engl J Med* 1996;334(19):1209-15.
23. Hahler B. Surgical wound dehiscence. *Medsurg Nurs* 2006;15(5):296-301.
24. Thiede A and Debus S. Die Wunde. In: *Berchtold, Chirurgie*. 6 th ed. München, Jena: Urban, 2008:45-62.
25. Pezutto A, Ulrichs T and Burmester GR. Taschenatlas der Immunologie. Das Immunsystem. 2 th ed. Stuttgart, New York: Thieme, 2007:1-87.

26. Akashi M, Furudo S, Hashikawa K, et al. Postoperative abnormal response of C-reactive protein as an indicator for infectious complications after oral oncologic surgery with primary reconstruction. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2015;44(1):13.
27. Laki K and Lorand L. On the solubility of fibrin clots. *Science* 1948;108.
28. Duckert F, Jung E and Shmerling DH. A hitherto undescribed congenital haemorrhagic diathesis probably due to fibrin stabilising factor deficiency. *Thromb Diath Haemorr* 1960;5:179-86.
29. Egbring R, Kröniger A and Seitz R. Factor XIII deficiency: pathogenic mechanisms and clinical significance. *Semin Thromb Hemost* 1996;22(5):419-25.
30. Inbal A, Lubetsky A, Krapp T, et al. Impaired wound healing in factor XIII deficient mice. *Thromb Haemost* 2005;94(2):432-7.
31. Kröniger A, Seitz R, Schwerk WB, et al. Elastase induced factor XIII deficiency in Henoch-Schönleinpurpura: Efficacy of FXIII substitution in intestinal bleeding. *Thromb Haemost* 1993;69(877).
32. Becker SW, Weidt F and Rohl K. The role of plasma transglutaminase (F XIII) in wound healing of complicated pressure sores after spinal cord injury. *Spinal Cord* 2001;39:114-7.
33. Herouy Y, Hellstern MO, Vanscheidt W, et al. Factor XIII-mediated inhibition of fibrinolysis and venous leg ulcers. *Lancet* 2000;355(9219):1970-1.
34. Mosher DF, Schad PE and Kleinman HK. Cross-Linking of Fibronectin to Collagen by Blood Coagulation Factor XIIIa. *J Clin Invest* 1979;64:781-87.
35. Brown LF, Lanir N, McDonagh J, et al. Fibroblast Migration in Fibrin Gel Matrices. *Am J Pathol* 1993;142(1).
36. Weiss E, Yamaguchi Y, Falabella A, et al. Un-Cross-Linked Fibrin Substrates Inhibit Keratinocyte Spreading and Replication: Correction With Fibronectin and Factor XIII Cross-Linking. *Journal of Cellular Physiology* 1998;174:58-65.
37. Dardik R, Loscalzo J, Inbal AJ, et al. Factor XIII (FXIII) and angiogenesis. *Thromb Haemost* 2006;4:19-26.
38. Dardik R, Krapp T, Rosenthal E, et al. Effect of FXIII on monocyte and fibroblast function. *Cell Physiol Biochem* 2007;19(1-4):113-20.

39. Murphy K, Travers P and Walport M. Janeway Immunologie. 7 th ed. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag GmbH, 2009:123-24, 435-36.
40. Park JE and Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *Am J Surg* 2004;187(5A):11S-6S.
41. Teodorczyk-Injeyan JA, Sparkes BG, Lalani S, et al. IL-2 regulation of soluble IL-2 receptor levels following thermal injury. *Clin Exp Immunol* 1992;90(1):36-42.
42. Tomkinson BE, Brown MC, Ip SH, et al. Soluble CD8 during T cell activation. *J Immunol* 1989;142(7):2230-6.
43. Strioga M, Pasukoniene V and Characiejus D. CD8+ CD28- and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease. *Immunology* 2011;134(1):17-32.
44. Rumpf HJ, Meyer C, Hapke U, et al. Deutsche Version des Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT-G-L). In: Elektronisches Handbuch zu Erhebungsinstrumenten im Suchtbereich (EHES). Version 3.00. Mannheim: Zentrum für Umfragen, Methoden und Analysen (ZUMA) jetzt im GESIS-Leibniz-Institut, B2,1, 68159 Mannheim, 2003.
45. Ewing JA. Detecting alcoholism. The CAGE questionnaire. *JAMA* 1984;252(14):1905-7.
46. Fagerstrom KO and Schneider NG. Measuring nicotine dependence: a review of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. *J Behav Med* 1989;12(2):159-82.
47. Gastmeier P, Chaberny I, Dettenkofer M, et al. Definition für nosokomiale Infektionen. Indikator-Infektionen. Postoperative Wundinfektionen. Teil B. 2008:8-11.
48. Brunner E and Munzel U. Nichtparametrische Datenanalyse, unverbundene Stichproben. 2 th ed. Berlin: Springer Spektrum, 2013.
49. Rohleder NH, Flensberg S, Bauer F, et al. Can tissue spectrophotometry and laser Doppler flowmetry help to identify patients at risk for wound healing disorders after neck dissection? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014;117(3):302-11.
50. Choui K, Ziemer S and H Lammert. Faktor-XIII-Prophylaxe und deren Einfluß auf Wundheilungsstörungen im Kopf-Hals-Bereich. In: Klinische

- Aspekte des Faktor-XIII-Mangels. Diagnostik, klinische Relevanz, klinische Forschung. Basel: Karger, 1999:158-65.
51. Dickneite G, Herwald H, Korte W, et al. Coagulation factor XIII: a multifunctional transglutaminase with clinical potential in a range of conditions. *Thromb Haemost* 2015;113(4).
 52. Karkouti K, von Heymann C, Jespersen CM, et al. Efficacy and safety of recombinant factor XIII on reducing blood transfusions in cardiac surgery: a randomized, placebo-controlled, multicenter clinical trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2013;146(4):927-39.
 53. Sajid MS, Hutson KH, Rapisarda IF, et al. Fibrin glue instillation under skin flaps to prevent seroma-related morbidity following breast and axillary surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;5:CD009557.
 54. Brockmeier SJ, Schwub D and Gloddek B. Is the use of factor XIII for delayed wound healing in patients with head-neck tumors of value? *Laryngorhinootologie* 1998;77(12):715-8.
 55. Richardson VR, Cordell P, Standeven KF, et al. Substrates of Factor XIII-A: roles in thrombosis and wound healing. *Clin Sci (Lond)* 2013;124(3):123-37.
 56. Rantala A, Lehtonen OP and Niinikoski J. Alcohol abuse: a risk factor for surgical wound infections? *Am J Infect Control* 1997;25(5):381-6.
 57. Szabo G and Mandrekar P. A recent perspective on alcohol, immunity, and host defense. *Alcohol Clin Exp Res* 2009;33(2):220-32.
 58. Cook RT. Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system--a review. *Alcohol Clin Exp Res* 1998;22(9):1927-42.
 59. Messingham KA, Faunce DE and Kovacs EJ. Alcohol, injury, and cellular immunity. *Alcohol* 2002;28(3):137-49.
 60. Lau A, von Dossow V, Sander M, et al. Alcohol Use Disorder and Perioperative Immune Dysfunction. *Anesth Analg* 2009;108:916 –20.
 61. Baskic D, Vujanovic L, Arsenijevic N, et al. Suppression of natural killer-cell and dendritic-cell apoptotic tumoricidal activity in patients with head and neck cancer. *Head Neck* 2013;35(3):388-98.
 62. Brubaker AL, Schneider DF and Kovacs EJ. Neutrophils and natural killer T cells as negative regulators of wound healing. *Expert Rev Dermatol* 2011;6(1):5-8.

63. Chen L, Mehta ND, Zhao Y, et al. Absence of CD4 or CD8 lymphocytes changes infiltration of inflammatory cells and profiles of cytokine expression in skin wounds, but does not impair healing. *Exp Dermatol* 2014;23(3):189-94.
64. Arruvito L, Payaslian F, Baz P, et al. Identification and clinical relevance of naturally occurring human CD8+HLA-DR+ regulatory T cells. *J Immunol* 2014;193(9):4469-76.
65. Spotnitz WD. Fibrin sealant: past, present, and future: a brief review. *World J Surg* 2010;34(4):632-4.
66. Fortelny RH, Petter-Puchner AH, Glaser KS, et al. Use of fibrin sealant (Tisseel/Tissucol) in hernia repair: a systematic review. *Surg Endosc* 2012;26:1803-12.
67. Mucke T, Rau A, Weitz J, et al. Influence of irradiation and oncologic surgery on head and neck microsurgical reconstructions. *Oral Oncol* 2012;48(4):367-71.
68. Kip MJ, Neumann T, Jugel C, et al. New strategies to detect alcohol use disorders in the preoperative assessment clinic of a German university hospital. *Anesthesiology* 2008;109(2):171-9.
69. Vamvakas EC. Pneumonia as a complication of blood product transfusion in the critically ill: transfusion-related immunomodulation (TRIM). *Crit Care Med* 2006;34(5 Suppl):S151-9.
70. Shander A, Javidroozi M, Ozawa S, et al. What is really dangerous: anaemia or transfusion? *Br J Anaesth* 2011;107 Suppl 1:i41-59.
71. Pacheco-Lopez G, Engler H, Niemi MB, et al. Expectations and associations that heal: Immunomodulatory placebo effects and its neurobiology. *Brain Behav Immun* 2006;20(5):430-46.
72. Martin P and Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends Cell Biol* 2005;15(11):599-607.
73. Ichinose A. Factor XIII is a key molecule at the intersection of coagulation and fibrinolysis as well as inflammation and infection control. *Int J Hematol* 2012;95(4):362-70.
74. Muszbek L, Bereczky Z, Bagoly Z, et al. Factor XIII: a coagulation factor with multiple plasmatic and cellular functions. *Physiol Rev* 2011;91(3):931-72.

8 LEBENSLAUF

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9 DANKSAGUNG

Frau Prof. Dr. med. Claudia Spies danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, die Erarbeitung eines Studienprotokolls, die Einholung des Ethikvotums, die Aufklärung der Patienten durch die Prüfarzte, die Etablierung der Methodik, die Ermöglichung der Bearbeitung durch Zweitbetreuung und die finanzielle Absicherung der Studie sowie die finale Korrektur der Arbeit.

Frau Dr. med. Katharina Chalk danke ich für die Hilfsbereitschaft, Großzügigkeit und Geduld, die sie mir, trotz Ihrer Verpflichtungen in Klinik, Forschung und Familie, bei der Betreuung entgegenbrachte.

Besonderen Dank schulde ich auch Jeaninne Breda und Julia Wolfram, für die gemeinsame praktische Arbeit, die gemeinsame Dateneingabe und einen immer wieder belebenden Austausch. Insbesondere danke ich Marco Paupers, der die Studie vom allerersten Beginn bis zum Ende nicht nur als Doktorand, sondern auch als Prüfarzt wesentlich voran gebracht und zuverlässig mitgetragen hat.

Für die Durchsicht des Manuskripts danke ich Finn Peters und Antje Iser-Asmussen. Ihre Anmerkungen gaben mir noch mal hilfreiche Hinweise. Sehr herzlich danke ich auch Ina Rondak, Diplom-Statistikerin am Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie im Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, Grillparzerstr. 18 / 3. OG, 81675 München, sowie Prof. Dr. rer. nat. habil. Klaus-Dieter Wernecke, Sophisticated Statistical Analyses, Wildensteinerstr. 27, 10318 Berlin, für eine abschließende Kontrolle der statistischen Auswertung.

10 ERKLÄRUNG

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marie Asmussen, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss der prophylaktischen Gabe von Faktor XIII auf die Wundheilung nach Neck Dissection bei Patienten mit chronischem Alkoholkonsum“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift