

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

DISSERTATION

**Einfluss einer postoperativen Stimulation durch GM-CSF oder Mutagrip  
auf die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Gunnar Lachmann  
aus Radebeul

Datum der Promotion: 22.06.2014

## **Meiner Familie**

Teilergebnisse dieser Promotion wurden vor Abschluss des Promotionsverfahrens in folgenden Originalarbeiten veröffentlicht:

1. Gunnar Lachmann, Johannes Kurth, Klaus-Dieter Wernecke, Claudia Spies

*„Relevance of postoperative HLA-DR stimulation on infection parameters”*

Veröffentlicht als Poster beim ‚HAI 2012 – Hauptstadtkongress der DGAI für Anästhesie und Intensivtherapie‘ und bei der ‚European Students‘ Conference 2012‘ (Posterpreis)

2. Claudia Spies, Alawi Lütz, Markus Renius, Gunnar Lachmann, Clarissa von Haefen, Klaus-Dieter Wernecke, Marcus Bahra, Alexander Schiemann, Marco Paupers und Christian Meisel

*„Sargramostim but not vaccination improves HLA-DR response in immune suppressed patients after esophageal or pancreatic resection”*

Eingereicht im Januar 2013 beim ‚American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine‘

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abstract</b>	<b>6</b>
<b>2. Zusammenfassung</b>	<b>7</b>
<b>3. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>8</b>
<b>4. Einleitung</b>	<b>9</b>
4.1    Epidemiologie nosokomialer Infektionen	9
4.2    Postoperative Immunsuppression	9
4.3    Immunstimulation durch GM-CSF und Mutagrip	11
4.4    Infektparameter als Marker für Infektionen	12
<b>5. Fragestellung und Ziele</b>	<b>16</b>
<b>6. Patienten und Methodik</b>	<b>17</b>
6.1    Studiendesign	17
6.2    Patientenkollektiv	17
6.2.1    Einschlusskriterien	18
6.2.2    Ausschlusskriterien	18
6.2.3    Abbruchkriterien	18
6.2.4    Einschlussbaum	19
6.2.5    Randomisation	20
6.3    Studienprotokoll	20
6.3.1    Pankreas- und Ösophagusresektion	20
6.3.2    Entnahme der Blutproben	21
6.3.3    Gabe des Studienmedikaments	22
6.3.4    Tägliche Untersuchungen	22
6.4    Postoperative Komplikationen	23
6.4.1    Systemic Inflammatory Response Syndrome	23
6.4.2    Infektionen	23

6.5	Statistische Methoden	26
<b>7.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>28</b>
7.1	Basischarakteristika	28
7.2	Einfluss auf Infektparameter	29
7.2.1	Temperatur	29
7.2.2	Leukozyten	30
7.2.3	C-reaktives Protein	32
7.2.4	Procalcitonin	33
7.2.5	Interleukin-6	35
7.3	Multivariate Varianz- und Kovarianzanalyse	36
7.4	Einflussfaktoren auf Infektionen bzw. SIRS	37
7.5	Einfluss auf den Beginn der Infektionen bzw. SIRS	42
<b>8.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>44</b>
8.1	Hauptergebnisse	44
8.2	Vergleich mit anderen Studien	44
8.3	Sekundäre Endpunkte	45
8.4	Einflussfaktoren auf Infektionen bzw. SIRS	46
8.5	Basischarakteristika	48
8.6	Limitationen	48
8.7	Perspektiven	49
<b>9.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>50</b>
<b>10.</b>	<b>Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>54</b>
<b>11.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>56</b>
<b>12.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>57</b>

# 1. Abstract

**Title:** Effect of postoperative stimulation with GM-CSF or Mutagrip on the infection parameters of temperature, WBC, CRP, PCT and IL-6

**Background:** Granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) or Mutagrip are stimulators for immune reaction after suppression of human leukocyte antigen-DR (HLA-DR) expression. The impact of these medications as an intervention in postoperative immune suppression on infection parameters is unknown. Therefore, the infection parameters of temperature, white blood cell count (WBC), C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) and interleukin-6 (IL-6) were studied after the postoperative immune stimulation with Placebo/Mutagrip/GM-CSF. **Methods:** In this ethically approved, randomized, double-blinded, placebo-controlled study 61 patients with HLA-DR  $\leq$  10,000 antigens/monocyte on the first postoperative day (POD1) after pancreatic or esophageal resection were included. Of these patients 20 each received Placebo or GM-CSF (250  $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{d}$ ) and 21 patients received the drug Mutagrip (0.5 ml/d) respectively provided on POD1 to 3 if HLA-DR was  $\leq$  10,000 antigens/monocyte at the respective POD. The infection parameters were determined from day of surgery (OD) to POD5. Statistical analyses were performed using SPSS® and significance levels were calculated with Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney-U test as non-parametric tests. **Results:** On POD2 white blood cells were significantly increased after stimulation with GM-CSF ( $p = 0.003$ ). All the other infection parameters showed no significant differences. Mutagrip did not have an effect on all investigated parameters. **Conclusion:** Apparently, GM-CSF increases the leukocyte count after postoperative intervention while the infection parameters of temperature, CRP, PCT and IL-6 have been unaffected.

## 2. Zusammenfassung

**Titel:** Einfluss einer postoperativen Stimulation durch GM-CSF oder Mutagrip auf die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6

**Hintergrund:** Nosokomiale Infektionen stellen eine der häufigsten Komplikationen des Krankenhausaufenthaltes dar. 2006 traten insgesamt 550.000 Infektionen auf, bei denen 15.000 Patienten verstarben. Es wird angenommen, dass dabei vor allem perioperativ sezernierte Katecholamine und Prostaglandine zu einer postoperativ verringerten monozytären Expression des Humanen Leukozytenantigens-DR (HLA-DR) führen, die mit dem Outcome nosokomialer Infektionen korreliert. Für Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) und Mutagrip wurde gezeigt, dass diese beiden Medikamente in der Lage sind, eine Suppression der HLA-DR-Expression wiederherzustellen. Als Marker für nosokomiale Infektionen spielen vor allem Temperatur, Leukozyten, C-reaktives Protein (CRP), Procalcitonin (PCT) und Interleukin-6 (IL-6) eine Rolle. Bisher wurde die Wirkung der beiden immunstimulierenden Medikamente auf diese Parameter allerdings nicht untersucht, was Primärziel dieser Arbeit ist. Weiterhin wurde als Sekundärziel die Wirkung auf die Anzahl und den Beginn von Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) bzw. Infektionen untersucht. **Methodik:** Es wurden insgesamt 61 Patienten in die randomisierte, doppel-blinde, Placebo-kontrollierte Studie eingeschlossen, die sich einer elektiven Ösophagus- oder Pankreasresektion unterzogen und deren HLA-DR-Expression am 1. postoperativen Tag  $\leq 10.000$  Antigene/Monozyt betrug. Diese wurden in die einzelnen Studienarme randomisiert (Placebo 20, GM-CSF 20, Mutagrip 21 Patienten). Infektparameter wurden bis zum 5. postoperativen Tag und Infektionen bzw. SIRS bis zum 9. postoperativen Tag untersucht. Zur statistischen Auswertung an den einzelnen Untersuchungstagen zwischen den drei Behandlungsarmen wurde der Kruskal-Wallis-Test, bei Signifikanz der Mann-Whitney-U-Test für Paarvergleiche verwendet. Ein  $p < 0,05$  wurde als signifikant angesehen. **Ergebnisse:** GM-CSF erhöhte signifikant ( $p = 0,003$ ) am 2. postoperativen Tag die Leukozytenzahl. Der Beginn von SIRS trat unter Mutagrip-Gabe signifikant ( $p = 0,027$ ) später auf. Auf alle weiteren untersuchten Parameter bzw. SIRS und Infektionen hatten die beiden Medikamente keinen Einfluss. **Schlussfolgerung:** Unter einer postoperativen Therapie mit GM-CSF kam es zu einer Erhöhung der Leukozytenzahl, obwohl kein Einfluss auf die Infektionsrate gezeigt werden konnte.

### 3. Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
ASA	American Society of Anesthesiologists
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AUDIT	Alcohol Use Disorders Identification Test
AZV	Atemzugvolumen
BIS	Bispectral Index Monitor System
BMI	Body Mass Index
CDC	Centre for Disease Control and Prevention
CI	Cardiac Index
CRP	C-reaktives Protein
FiO <sub>2</sub>	Fraction of inspired oxygen
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor
HAP	Hospital-Acquired Pneumonia
HCG	Humanes Choriongonadotropin
HLA-DR	Humanes Leukozytenantigen-DR
IFN	Interferon
IL	Interleukin
ITS	intensivmedizinische Station
KG	Körpergewicht
KI	Konfidenzintervall
MFI	median fluorescence intensity
NAS	numerische Analogskala zur Schmerzevaluation
NK	Natürliche Killerzellen
OP	Operation
OD	operation day
PCT	Procalcitonin
PDK	periduraler Dauerkatheter
PEEP	positiver endexpiratorischer Atemdruck
PetCO <sub>2</sub>	End-tidal carbon dioxide tension
POD	postoperative day
SAE	serious adverse event
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
TIVA	totale intravenöse Anästhesie
TNF	Tumornekrosefaktor
VAS	visuelle Analogskala zur Schmerzevaluation
WBC	white blood cell count
ZVK	zentraler Venenkatheter

## **4. Einleitung**

### **4.1 Epidemiologie nosokomialer Infektionen**

Nosokomiale Infektionen als eine der häufigsten Komplikationen des Krankenhausaufenthaltes stellen ein wesentliches klinisches Problem dar: Sie führen zu erhöhter Morbidität und Mortalität, verlängern die Hospitalisation und erfordern weitergehende Diagnostik und Behandlung, die mit erheblichen zusätzlichen Kosten verbunden sind [1].

Geffers et al. [1] untersuchten zwischen 2005 und 2009 nosokomiale Infektionen in Deutschland und ermittelten eine Inzidenz von 57.900 Infektionen pro Jahr auf Intensivstationen, von denen die meisten auf Pneumonien, Harnwegsinfektionen und ZVK-assoziierte Infektionen zurückzuführen sind. Besonders Pneumonien als häufigste aller nosokomialen Infektionen auf Intensivstationen sind folgenreich, sie verlängern signifikant die Hospitalisation und erhöhen die Morbidität und Mortalität. 8,4 % aller Intensivpatienten entwickeln eine nosokomiale Pneumonie, von denen wiederum 20,9 % versterben [2].

Gastmeier et al. [3] zufolge beträgt die Anzahl aller nosokomialen Infektionen für das Jahr 2006 in Deutschland 550.000 Infektionen: 155.000 Harnwegsinfektionen, 225.000 postoperative Wundinfektionen, 80.000 untere Atemwegsinfektionen (davon 60.000 Pneumonien), 20.000 Patienten mit primärer Sepsis und 70.000 andere Infektionen. Sie ermittelten eine Inzidenz von 20.000 Pneumonien bei beatmeten Patienten auf Intensivstationen.

Weiterhin wurde die auf nosokomiale Infektionen zurückzuführende Letalität mit 2,6 % [3, 4] angegeben, es resultiert eine Anzahl von ca. 15.000 Patienten pro Jahr, die versterben [3].

Die Inzidenz aller nosokomialen Infektionen wird mit 6,3 % [4] bzw. 5-8 % [5] angegeben. Die höchste Mortalitätsrate aller nosokomialen Infektionen weist die Pneumonie mit 10,2 % auf, gefolgt von Sepsis mit 2,9 % und Wundinfektion mit 2,5 % [4] bzw. 1,8 % [3].

Besonders chirurgische Patienten haben aufgrund der zusätzlichen postoperativ relevanten Immunsuppression ein erhöhtes Risiko, eine nosokomiale Infektion zu entwickeln [4]. Die Mortalitätsrate liegt hier zwischen 1,5 % [4] und 1,6 % [6]. Das Risiko einer Pneumonie ist ebenfalls erhöht [2]. Größere onkochirurgische Operationen können zudem vermehrt zu postoperativer Sepsis führen [7].

### **4.2 Postoperative Immunsuppression**

Operatives Trauma, gemessen an Größe und Art der intraoperativen Verletzung, bestimmt das Ausmaß und die Dauer der postoperativen entzündlichen und immunologischen Reaktionen [8].

Eine Störung der immunologischen Abwehrlage im postoperativen Verlauf beobachtet man nach jeder viszeralchirurgischen Operation, bei der es zu einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Immundysfunktion kommt, die wenige Stunden postoperativ beginnt und über mehrere Tage andauert [9].

Die zellvermittelte Immunantwort in Form zytotoxischer T-Zellen und natürlicher Killerzellen (NK) ist in Relation zum Ausmaß der Operation und Gewebsverletzung supprimiert, was zu erhöhten postoperativen Infektionsraten, Sepsis und Organversagen führen kann [10].

Ebenso führen Operationen zu reduzierter Lymphozyten-Proliferation, reduzierter Zytokinproduktion durch Makrophagen und Neutrophile [11], reduzierter NK-Aktivität um bis zu 45 % [11-13] und verstärkter Apoptose von Lymphozyten und dendritischen Zellen [11].

Goldfarb et al. [10] und Greenfeld et al. [13] sind einig darüber, dass perioperativ sezernierte Katecholamine und Prostaglandine aufgrund der Suppression natürlicher Killerzellen und anderer Lymphozyten die wichtigsten Mediatoren bei der Vermittlung der postoperativen Immunsuppression sind, die während der Operation durch Gewebeschäden, Narkose, Hypothermie, Blutverlust und Schmerz ausgeschüttet werden [10].

Auch antigenpräsentierende Zellen wie Monozyten besitzen Rezeptoren für Glukokortikoide und Katecholamine und können durch die perioperative Sekretion dieser Mediatoren, ansteigende Plasmaspiegel von Prostaglandinen, Stickstoffmonoxid sowie anti-inflammatorische Zytokine zu einer postoperativ verringerten Expression der monozytären HLA-DR-Moleküle und so zu einer Störung der Monozyten-T-Zell-Interaktion bzw. reduzierter Antigen-Präsentation führen [12]. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass das auf der Zelloberfläche von peripheren Monozyten exprimierte HLA-DR mit dem postoperativen Outcome bzw. dem Outcome nosokomialer Infektionen korreliert und die Expression ein robuster Marker für die Immundysfunktion schwerkranker Patienten ist [11, 14, 15]. Da Monozyten eine wichtige Quelle pro-inflammatorischer Zytokine sind, kann ihre Suppression zu einer dominanten systemischen anti-inflammatorischen Reaktion und somit zu nosokomialen Infektionen führen [12, 16]. Auch das langfristige Auftreten von Rezidiven nach onkochirurgischen Operationen korreliert mit einer reduzierten zellulären Immunität besonders der NK-Aktivität in der postoperativen Phase [12, 13].

Große Operationen führen zu einer unmittelbar systemisch überschießenden und verlängerten pro-inflammatorischen Zytokinantwort (v.a. IL-1 und IL-6) [12, 13], die mit postoperativ erhöhten Infektionskomplikationen, erhöhter Mortalitätsrate, Multiorganversagen und Sepsis verbunden ist [13]. Darüber hinaus kommt es zu einem Anstieg der Plasmaspiegel der anti-inflammatorischen Zytokine (z.B. IL-10), offensichtlich verursacht durch Monozyten und

Lymphozyten [17], was zu einer Unterdrückung des zellulären Immunsystems führt [13]. Allerdings sind große Operationen ebenso mit einer deutlichen Suppression der pro-inflammatorischen Zytokine IL-2, IL-12 und IFN- $\gamma$  verbunden [9, 12, 13], die Freisetzung von TNF- $\alpha$  ist dabei vermindert [9]. Besonders die eingeschränkte Produktion von monozytärem IL-12 korreliert mit postoperativen Komplikationen und einem ungünstigen klinischen Verlauf mit ARDS und Sepsis [13].

Bereits präoperativ weisen einige Patienten scheinbar als Folge der Grunderkrankung, von Medikamenten oder psychischer Belastung [12] eine signifikant erniedrigte NK-Aktivität sowie einen Abfall der pro-inflammatorischen Zytokine IFN- $\gamma$  und IL-12 auf [10, 13]; auch dabei kann es zu einer übertriebenen postoperativen zellulären Immunsuppression kommen [12].

### **4.3 Immunstimulation durch GM-CSF und Mutagrip**

Das zunehmende Verständnis der postoperativen Immundysfunktion hat die Therapie in den letzten Jahren auf Immunstimulation und Wiederherstellung der Monozyten-Funktion einschließlich deren HLA-DR-Expression gelenkt [18]. Studien haben gezeigt, dass zwei immunstimulierende Medikamente vielversprechend erscheinen: GM-CSF und Mutagrip.

Klinisch wird GM-CSF in erster Linie zur Stimulation blutbildender Zellen nach Chemotherapie verwendet [19]. Er steigert außerdem die Anzahl der dendritischen Zellen bzw. Makrophagen und kann so zur Verbesserung ihrer immunstimulierenden Wirkung durch Erhöhung der Oberflächenexpression von HLA-DR beitragen [20]. GM-CSF verbessert die Fähigkeit von Monozyten und Makrophagen zur Phagozytose eingedrungener Pathogene und erhöht den oxidativen Burst sowie die monozytär freigesetzten pro-inflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 und IL-6 [21], während die Anzahl anti-inflammatorischer Zytokine (IL-10) abfällt [22].

Seit einigen Jahren gibt es Studien zur Verwendung von GM-CSF als immunstimulierende Substanz. So konnte die HLA-DR-Suppression nach Herzchirurgie [23] oder bei Patienten mit Sepsis [22, 24] durch GM-CSF vollständig wiederhergestellt werden. Signifikant wurde die Mortalität bei pädiatrischen Patienten mit Sepsis und Neutropenie gesenkt [25]. Außerdem wurde nachgewiesen, dass GM-CSF bei Patienten mit schwerer Sepsis und respiratorischer Insuffizienz den Gasaustausch und die Funktion von Alveolarmakrophagen verbessert [26]. GM-CSF scheint demnach ein interessantes Immuntherapeutikum, das immunstimulierende Effekte und Immunzellfreisetzung aus dem Knochenmark vereint. Eine prophylaktische Gabe war in Bezug auf Infektionskomplikationen bisher allerdings nicht erfolgsversprechend [27].

Das Ziel der Impfung mit Mutagrip ist die Induktion einer T-Zell-Immunantwort und die damit verbundene Generation von Gedächtniszellen in Blut, Milz und Geweben, die in der Lage sind, eine schnelle und adäquate Immunantwort bei der Exposition gegen Influenza-Viren einzuleiten [28]. Nur wenige Studien haben bisher diesen Effekt hinsichtlich einer Immunstimulation untersucht. Spies et al. [29] zufolge erhöht eine Impfung die HLA-DR-Expression bei konservativ behandelten Krebspatienten des oberen Atemwegs, während bei operativ versorgten keine Änderung erkennbar war. Haining et al. [18] zeigten ebenso eine erhöhte monozytäre HLA-DR-Expression und T-Zell-Proliferation nach Influenza-Impfung bei Kindern nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation. Diese beiden Studien lassen den Schluss zu, dass Mutagrip möglicherweise genutzt werden kann, um den postoperativen Immunstatus zu verbessern.

#### **4.4 Infektparameter als Marker für Infektionen**

Die Früherkennung einer Infektion stellt aufgrund der zumeist unspezifischen Symptome eine große Herausforderung dar. Die frühzeitige Diagnose septischer Patienten ermöglicht eine frühe therapeutische Intervention, die günstigen Einfluss auf das Outcome hat [7]. Dabei spielen Infektparameter eine zentrale Rolle.

Als ein wichtiges diagnostisches Zeichen trägt Fieber dazu bei, eine adäquate Therapie zu beginnen und die Infektion zu verfolgen [30]. Häufigste Ursachen dieses universell akzeptierten Markers [31] sind Infektionen, Operationen oder Hirnblutungen. 70 % aller Intensivpatienten entwickeln Fieber, welches die Morbiditäts- und Mortalitätsrate dieser Patienten erhöht [32]. Abbildung 1 zeigt die Aktivierung des Hypothalamus und die damit verbundene Entstehung von Fieber.

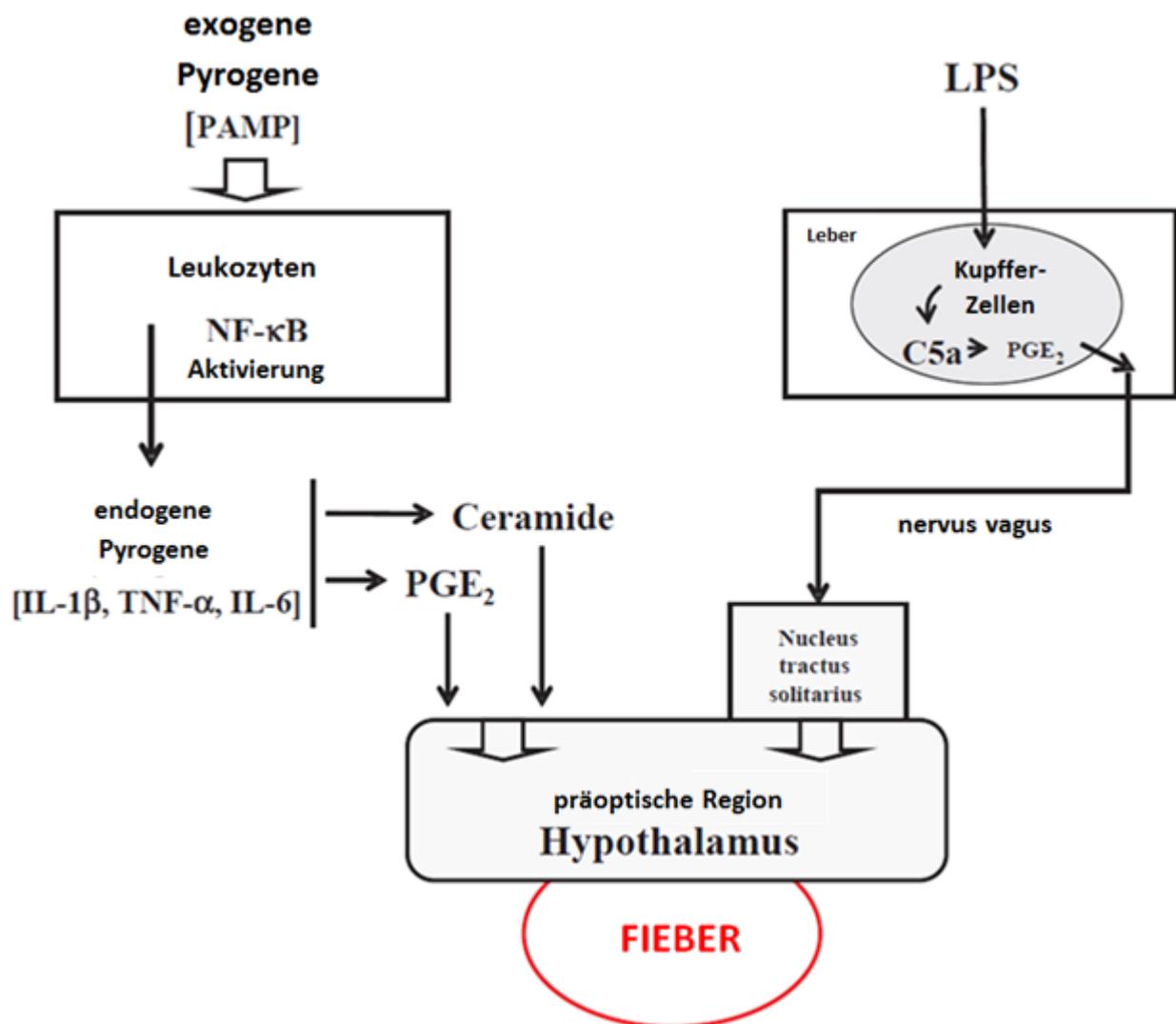


Abb. 1: Aktivierung des Hypothalamus führt zu Fieber [30]

Fieber als eine nichtspezifische Antwort auf verschiedene Arten infektiöser und nicht-infektiöser Stimuli ist allerdings nur in etwa der Hälfte aller Fälle mit Infektionen assoziiert [32]. Obwohl typische Merkmale von Infektionen - ansteigende Leukozytenzahl und Fieber - nicht bei allen Patienten vorhanden sein müssen [31], werden diese beiden Parameter trotz undokumentierter Genauigkeit häufig als Marker für Infektionen verwendet [33].

Die Leukozytenzahl als einer der ersten untersuchten Infektparameter weist nur eine geringe Sensitivität und Spezifität auf [34, 35], dennoch wird sie standardmäßig im klinischen Alltag mittels kleinen Blutbildes und Differentialblutbildes bestimmt. Als Reaktion auf Infektionen, Traumata oder Entzündungen steigt sie an [36], ist allerdings nur ein wenig sensitiver Marker für Sepsis [37]. Bonsu et al. fanden eine Sensitivität und Spezifität von nur 45 % und 78 %, eine andere Studie erreichte Werte von 52 % und 74 %. Die Leukozytenzahl ist somit kein idealer

Marker, weshalb andere und neuere Marker wie C-reactives Protein (CRP) und Procalcitonin (PCT) erforscht wurden [38].

Das am häufigsten klinisch verwendete akute-Phase-Protein ist das C-reaktive Protein, das innerhalb von 6 bis 8 Stunden in der Leber als Reaktion auf Gewebsschäden und Infektionen synthetisiert wird. Seine Halbwertszeit beträgt 19 Stunden, seine Konzentration kann auf mehr als das 1000-fache ansteigen [39]. CRP erweist sich als besonders nützlich bei spät einsetzenden nosokomialen Infektionen [39] und wird als sensitiver Marker für bakterielle Infektionen [40] und am häufigsten für die Diagnose von Sepsis in der klinischen Praxis verwendet [41].

Einen Anstieg der CRP-Konzentration findet man allerdings auch bei Mekoniumaspiration, Neoplasien, bestimmten viralen Infektionen, autoimmun- und rheumatischen Erkrankungen, Myokardinfarkt, Gewebnekrosen, nach Impfungen und vor allem nach Operationen [34, 39, 41-43], bei denen die Werte zwei bis drei Tage postoperativ maximal erhöht sind und erst nach ungefähr drei Wochen Normalwerte erreichen [41].

Bottner et al. fanden für CRP eine Sensitivität und Spezifität von 96 % und 92 %. In der frühen postoperativen Phase allerdings hat es nur eine geringe Sensitivität und konnte nicht das Outcome oder die Schwere der Infektion voraussagen [34]. Seine Maximalwerte sind höher, werden allerdings einen Tag später erreicht als bei PCT [41].

Ein weiteres akute-Phase-Protein ist Procalcitonin, das während schwerer Infektionen und Endotoxämie ansteigt [7]. Die genauen Sekretionsorte bei Infektionen sind weitgehend unklar, ein extrathyreoidaler Ursprung wie Leber oder Monozyten wird angenommen.

Die Plasmakonzentration von PCT steigt 4 Stunden nach Exposition mit bakteriellem Endotoxin an, erreicht ihr Maximum nach 6 bis 8 Stunden und bleibt für mindestens 24 Stunden erhöht [39], die Sensitivität bzw. Spezifität reicht von 87 % bis 100 % [39, 41]. PCT ist nützlich bei der Beurteilung der Schwere der Infektion, des Verlaufs und der Vorhersage des Outcomes [39]. Es kann nachweislich die Mortalität einer schweren postoperativen Sepsis durch zeitige Diagnose senken. Als ein zeitiger Marker für postoperative Infektionen nach großen onkochirurgischen Operationen erreichte dieser Parameter in Assoziation mit dem Auftreten von Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) sogar eine Sensitivität und Spezifität von 100 % und 86 % [7].

Neuere in den 1990ern entwickelte Infektparameter sind Interleukine, die erforscht wurden, weil Leukozyten und CRP als späte Marker nicht sensitiv genug für die frühzeitige Diagnose von

Sepsis sind [39]. Das am meisten untersuchte Interleukin ist das IL-6, dessen Konzentration nach Exposition mit bakteriellen Endotoxinen stark ansteigt und die Sekretion des CRP in der Leber induziert; demnach ist es bereits mehrere Stunden früher erhöht [38]. Es zählt gemeinsam mit PCT zu den früh sensitiven Markern, wohingegen CRP zu den spät spezifischen Markern gerechnet wird [39].

Mokart et al. [7] haben gezeigt, dass IL-6 ein guter, unabhängiger und zeitiger Marker für postoperative Sepsis nach großen onkochirurgischen Operationen ist; diese lassen es innerhalb von 3 Stunden postoperativ ansteigen, das dann in unkomplizierten Fällen für 48 bis 72 Stunden erhöht bleibt. Sie ermittelten eine Sensitivität und Spezifität von 90 % und 58 %, mit SIRS assoziiert sogar 100 % und 79 %. Dabei korreliert IL-6 auch mit der Schwere der Sepsis und dem Outcome der Patienten [7]. Bottner et al. [34] erreichten Werte von 95 % und 87 %.

Mehrere Studien sehen IL-6 als den besten Marker für Sepsis [37] und einen genaueren Marker für Infektionen als CRP [35].

## 5. Fragestellung und Ziele

Chirurgische Eingriffe können zu einer Abnahme der HLA-DR-Expression in der frühen postoperativen Phase führen und das Risiko begünstigen, postoperativ eine Infektion zu entwickeln [4, 12]. Eine immunstimulierende Wirkung konnte durch Vakzinierung mit Mutagrip oder Gabe von GM-CSF erzielt werden [18, 22], die möglicherweise auch die postoperative Morbidität und Mortalität senken könnte. Bisher gibt es jedoch keine klinischen Studien, in denen die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6 während einer schweren postoperativen Immundepression nach Gabe dieser beiden Medikamente untersucht wurden.

- Primäres Ziel dieser Arbeit war der Vergleich der postoperativen Wirkung von Placebo, einer Vakzinierung mit Mutagrip bzw. GM-CSF auf die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6 bei immunsupprimierten Patienten.
- Sekundäres Ziel dieser Arbeit war der Vergleich der postoperativen Wirkung von Placebo, einer Vakzinierung mit Mutagrip bzw. GM-CSF auf die Anzahl und den Beginn von SIRS bzw. Infektionen.

## **6. Patienten und Methodik**

### **6.1 Studiendesign**

Bei der Studie „Einfluss einer postoperativen Vakzination oder von GM-CSF bei immunsupprimierten Patienten nach Pankreas- oder Ösophagusresektion auf den Verlauf einer Immunsuppression und die postoperative Infektionsrate“ handelt es sich um eine Placebo-kontrollierte Pilotstudie im Paralleldesign, die monozentrisch, prospektiv, kontrolliert, randomisiert und doppelblind durchgeführt wurde.

Patienten, die sich einer elektiven Ösophagus- oder Pankreasresektion unterzogen, wurden nach deren Aufnahme in der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum von einem Studienarzt der Universitätsklinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum im Anschluss an das Narkoseaufklärungsgespräch auf die geplante Studie aufmerksam gemacht und ebenso über den Studieninhalt und mögliche Risiken mündlich sowie schriftlich aufgeklärt.

Am 1. postoperativen Tag wurde die HLA-DR-Expression auf Monozyten bestimmt. Bei einem Wert von  $\leq 10.000$  Antigenen/Monozyt erfolgte die Zuordnung des Patienten durch Randomisierung zu einem der drei Studienarme, wobei die jeweilige Studienmedikation doppelblind als Add-on-Therapie verabreicht wurde:

1. Influenza-Impfstoff (Mutagrip<sup>®</sup>, Sanofi Pasteur MSD GmbH)
2. Sargramostim (GM-CSF, Leukine<sup>®</sup>, Bayer Health Care TM)
3. NaCl 0,9 % (Braun)

Sollte die Bestimmung der HLA-DR-Expression auf Monozyten am 1. postoperativen Tag einen Wert von  $> 10.000$  Antigenen/Monozyt ergeben haben, erfolgte kein Studieneinschluss für diesen Patienten. Eingeschlossene Patienten nahmen bis einschließlich des 9. postoperativen Tages und der damit verbundenen Abschlussuntersuchung an der Studie teil, die unter Berücksichtigung der Regeln der Good Clinical Practice durchgeführt wurde. Das Monitoring übernahm das Koordinationszentrum Klinische Studien Charité.

### **6.2 Patientenkollektiv**

Alle Untersuchungen fanden im Zeitraum Oktober 2008 bis März 2011 in der Klinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin Campus Charité Mitte und Campus

Virchow-Klinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum mit Genehmigung der zuständigen Ethikkommission (Referenz-Nr. ZS EK 15/287/08) statt. Insgesamt wurden 61 Patienten in die Studie eingeschlossen, die sich einer elektiven Ösophagus- oder Pankreasresektion unterzogen.

### **6.2.1 Einschlusskriterien**

- elektive Pankreasresektion oder Ösophagusresektion
- Alter  $\geq$  18 Jahre
- HLA-DR-Expression auf Monozyten  $\leq$  10.000 Antigene/Monozyt am 1. postoperativen Tag

### **6.2.2 Ausschlusskriterien**

- bekannte Schwangerschaft oder positiver Schwangerschaftstest ( $\beta$ -HCG im Urin)
- Stillzeit oder Frauen im gebärfähigen Alter ohne gesicherte Kontrazeption
- angeborene oder erworbene Bluterkrankung
- Chemo- oder Radiotherapie innerhalb der letzten 28 Tage
- Leukämie
- nachgewiesene Infektion in den letzten 7 Tagen vor der geplanten Operation
- bekannte Hepatitis B, C oder HIV-Infektion oder positiver Labortest
- Autoimmunerkrankungen
- Einnahme von Immunsuppressiva bis zu vier Wochen vor Studieneinschluss
- nicht therapierte Herzrhythmusstörungen oder instabile Angina pectoris
- symptomatische angeborene Herzfehler
- Thrombosen oder thrombembolische Ereignisse in der klinischen Vorgeschichte
- Körpergewicht  $<$  50 Kg
- Labor am Tag vor der Operation:  
Thrombozyten  $\leq$  100.000 / $\mu$ l, Neutrophile  $\leq$  1.500 / $\mu$ l, Hämoglobin  $\leq$  8 mg/dl, Bilirubin  $>$  2 mg/dl, Kreatinin  $>$  1,5 mg/dl, ASAT/ALAT  $>$  90 U/l

### **6.2.3 Abbruchkriterien**

- Widerruf der Einwilligung

- allergische Reaktionen oder schwere Nebenwirkungen nach Gabe der Prüfpräparate
- SAEs oder andere medizinische Notfälle, die eine Entblindung des Patienten notwendig machen
- Eintritt einer Schwangerschaft
- jede andere Situation, bei der nach Ansicht des Prüfarztes eine weitere Teilnahme an der klinischen Prüfung nicht im besten Interesse des Patienten sein würde
- Umstände für eine therapeutische Intervention, die durch das Protokoll nicht zugelassen ist
- nachträgliches Auftreten eines Ausschlusskriteriums

#### 6.2.4 Einschlussbaum

Insgesamt wurden 319 Patienten einer geplanten Ösophagus- bzw. Pankreasresektion gescreent, von denen 238 die Teilnahme ablehnten bzw. die Einschlusskriterien nicht erfüllten. 18 weitere Patienten wiesen am 1. postoperativen Tag eine HLA-DR-Expression auf Monozyten  $> 10.000$  Antigene/Monozyt auf und konnten nicht eingeschlossen werden. Aufgrund von 2 Drop-Outs der 63 randomisierten Patienten wurden insgesamt 61 Patienten in die Studie eingeschlossen.

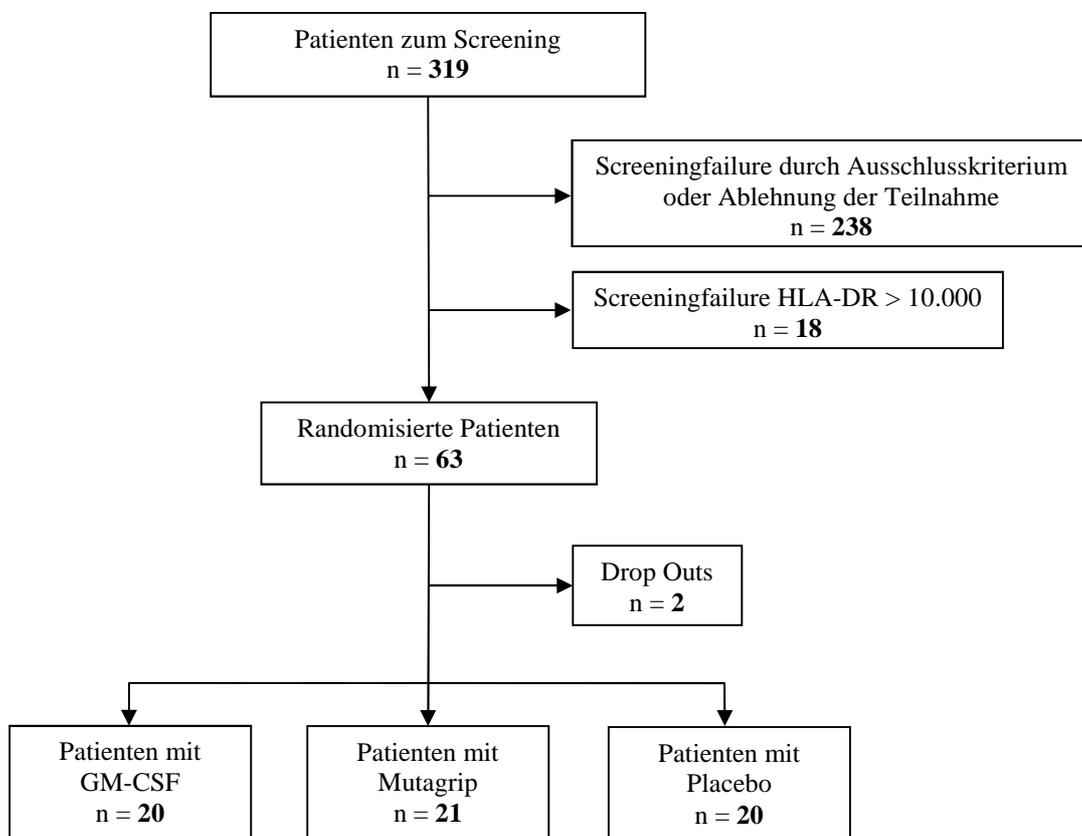


Abb. 2: Einschlussbaum

## 6.2.5 Randomisation

Die Randomisation in die vorgesehenen Behandlungsarme erfolgte in Form einer Blockbildung, wobei die Randomisierungsliste durch den Studienkoordinator verwaltet wurde. Dieser übergab der Apotheke eine Liste mit den Randomisierungsnummern und der jeweiligen Zuteilung zu einer der drei Behandlungsgruppen, die weder der behandelnde Arzt, noch der Patient kannten. Die Verpackung der Studienmedikation enthielt ebenfalls keinerlei Informationen über die Art der Therapie. Bei Aufnahme des Patienten in die Studie wurde ihm eine laufende Randomisierungsnummer zugeordnet, die er während der gesamten Prüfung behielt und zu der weder eine hinzugefügt, noch weggenommen wurde.

Die Studie beinhaltete eine Stratifizierung in Bezug auf Pankreas- und Ösophagusresektion.

## 6.3 Studienprotokoll

### 6.3.1 Pankreas- und Ösophagusresektion

Die Pankreas- und Ösophagusresektionen wurden von Fachärzten der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, durchgeführt. Alle Patienten wurden nach den Standards der Universitätsklinik für Anästhesiologie mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt.

Pankreasresektion	Ösophagusresektion
<i>Narkoseeinleitung</i>	
PDK-Anlage im Sitzen, Testdosis 3 ml Bupivacain 0,5 % Fentanyl 1-2 µg/kg KG Thiopental 3-5 mg/kg KG Bolus, evtl. Etomidate 0,15-0,3 mg/kg KG Rocuronium 0,6 mg/kg KG, ggf. RSI mit Succinylcholin Magensonde transnasal, ZVK V. jug. int., Blasenkatheter, art. Zugang über A. rad. Antibioseprophylaxe	PDK-Anlage im Sitzen, nach Intubation Bolusapplikation von 4-8 ml der Stammlösung (Ropivacain 0,2 % + Sufentanil 1 µg/ml), anschließend 6-8 ml/h Fentanyl 0,15-0,2 mg Propofol 2 mg/kg KG Rocuronium 0,6 mg/kg KG Magensonde transnasal, ZVK V. jug. int., Blasenkatheter Start der TIVA mit Propofol 5-10 mg/kg KG/h,

	ggf. Fentanyl 0,1-0,15 mg Antibioseprophylaxe
<i>Narkoseführung</i>	
<p>balancierte Anästhesie mit Desfluran in O<sub>2</sub>-Luft-Gemisch</p> <p>Beatmung: O<sub>2</sub>-Luft-Gemisch (FiO<sub>2</sub> 0,5-0,8), PetCO<sub>2</sub> 35-45 mmHg, PEEP 5 cmH<sub>2</sub>O</p> <p>PDK: Ropivacain 0,2 % mit Sufentanil 1 µg/ml, 6-8 ml Bolus, dann Laufrate 6-8 ml/h</p> <p>ggf. Relaxierung mit Rocuronium</p> <p>Wiederholung der Antibioseprophylaxe nach 3 Stunden</p>	<p>TIVA mit Propofol initial 10 mg/kg KG/h, Reduktion bis min. 5 mg/kg KG/h, ggf. Fentanyl 0,1-0,15 mg</p> <p>Beatmung: O<sub>2</sub>-Luft-Gemisch (FiO<sub>2</sub> 0,5-0,8), PetCO<sub>2</sub> 35-45 mmHg, PEEP 5-8 cmH<sub>2</sub>O</p> <p>bei 2-Lungenventilation AZV 6-8 ml/kg KG</p> <p>bei 1-Lungenventilation FiO<sub>2</sub> = 1,0 und ggf. reduzieren</p> <p>PDK: Ropivacain 0,2 % mit Sufentanil 1 µg/ml, Laufrate 6-8 ml/h</p> <p>ggf. Relaxierung mit Rocuronium</p> <p>Wiederholung der Antibioseprophylaxe nach 3 Stunden</p>
<u>intraoperative Zielwerte</u>	
<p>Cardiac Index &gt; 2,5</p> <p>BIS 40-60</p> <p>Blutdruck innerhalb ± 20 % der Ausgangswerte</p> <p>Glucose zwischen 80 und 130 mg/dl</p>	
<i>Postoperatives Management</i>	
<p>nach Möglichkeit Extubation und Verlegung auf ITS</p> <p>Vermeiden von Sättigungsabfällen unter 93 %</p> <p>adäquate Analgesie (VAS &lt; 5)</p>	

Tab. 1: Narkoseeinleitung, -führung und postoperatives Management

### 6.3.2 Entnahme der Blutproben

- vor Einleitung der Anästhesie
- jeweils 1. bis 5. postoperativer Tag (8 Uhr morgens)

Die Weiterverarbeitung der Blutproben durch das Institut für Laboratoriumsmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, fand jeweils im Anschluss an die Blutentnahme statt. Es wurde jeweils ein Differentialblutbild erstellt, ebenso wurden die Infektparameter Leukozyten, CRP, PCT und IL-6 bzw. die monozytäre HLA-DR-Expression bestimmt.

### **6.3.3 Gabe des Studienmedikaments**

Im Rahmen der 1. postoperativen Blutentnahme wurde die monozytäre HLA-DR-Expression bestimmt. Patienten, welche den Wert 10.000 Antigene/Monozyt unterschritten, erhielten randomisiert und doppelblind das entsprechende Studienmedikament, das jeweils nach Blutentnahme vom 1. bis 3. postoperativen Tag subkutan bzw. intravenös verabreicht wurde. Stieg die monozytäre HLA-DR-Expression am 2. oder 3. postoperativen Tag auf Werte > 10.000 Antigene/Monozyt, so fand an dem jeweiligen Tag keine Studienmedikation statt.

Folgende Prüfpräparate kamen zur Anwendung:

Verum 1: 1 Spritze s.c. mit 0,5 ml Grippeimpfstoff Mutagrip®

1 Perfusor-Spritze mit 24 ml NaCl 0,9 % (1 ml/h)

Verum 2: 1 Spritze s.c. mit 0,5 ml NaCl 0,9 %

1 Perfusor-Spritze mit 24 ml Sargramostim 250 µg/m<sup>2</sup> KOF in  
NaCl 0,9 % (1 ml/h)

Placebo: 1 Spritze s.c. mit 0,5 ml NaCl 0,9 %

1 Perfusor-Spritze mit 24 ml NaCl 0,9 % (1 ml/h)

### **6.3.4 Tägliche Untersuchungen**

Präoperativ sowie vom 1. bis 9. postoperativen Tag wurden die Patienten visitiert, anamnestisch sowie klinisch untersucht und dabei die Centre for Disease Control and Prevention (CDC)-, Hospital-Acquired Pneumonia (HAP)-, Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)- und Sepsis-Kriterien sowie die numerische Analogskala (NAS) für Schmerz in Ruhe und bei Belastung erhoben und die Temperatur gemessen. Stattgefundene Infektionen mit Beginn, Dauer sowie Deeskalation sind dokumentiert. Am 9. postoperativen Tag nach der Abschlussuntersuchung noch nicht abgeschlossene Infektionen wurden maximal weitere 21 Tage nachverfolgt.

## **6.4 Postoperative Komplikationen**

### **6.4.1 Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS)**

SIRS definiert die Veränderungen der klinischen Parameter Körpertemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Leukozytenzahl. Zugrunde liegt eine generalisierte inflammatorische Reaktion mit einer unbalancierten Ausschüttung pro- und antiinflammatorischer Zytokine, die durch verschiedene Stimuli wie etwa Traumata und nichtinfektiöse Entzündungen ausgelöst werden kann [44].

SIRS wurde entsprechend der Kriterien der Society of Critical Care Medicine Consensus Conference [44] angenommen, wenn mindestens zwei der folgenden Symptome bestanden:

- Körpertemperatur  $> 38\text{ °C}$  oder  $< 36\text{ °C}$
- HF  $> 90$  /min
- Atemfrequenz  $> 20$  /min oder  $\text{PaCO}_2 < 32$  mmHg
- Leukozyten  $> 12.000$  / $\mu\text{l}$  oder  $< 4.000$  / $\mu\text{l}$  oder  $> 10\%$  unreife Formen (stabförmige Granulozyten)

### **6.4.2 Infektionen**

Entsprechend der Kriterien des CDC für nosokomiale Infektionen wurde die Diagnose postoperativer Infektionen gestellt [45], wobei klinische Befunde und Ergebnisse der Labormedizin die Grundlage zur Diagnosestellung bildeten. Anhand der HAP-Kriterien [46] wurde eine nosokomiale Pneumonie und entsprechend der Kriterien der Society of Critical Care Medicine Consensus Conference [44] eine Sepsis diagnostiziert.

#### Wundinfektion

Infektion an der Inzisionsstelle innerhalb von 30 Tagen nach Operation und zusätzlich eines der folgenden Kriterien:

- eitrige Sekretion
- kultureller Nachweis von Erregern
- Entzündungszeichen
- Diagnose des behandelnden Arztes

Waren Haut bzw. subkutanes Gewebe betroffen, galt die Wundinfektion als oberflächlich. Die Diagnose einer tiefen Wundinfektion wurde gestellt, wenn Faszie und Muskelgewebe ebenfalls betroffen waren.

### Pneumonie

Röntgenthorax-Befund mit typischen pneumonischen Infiltraten und folgende Kriterien:

- Leukozytose  $> 12.000 /\mu\text{l}$  oder Leukopenie  $< 4.000 /\mu\text{l}$  und/oder Fieber  $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$  und/oder Verwirrtheit ohne andere Ursache und mindestens zwei der folgenden Kriterien:
  - neues Auftreten von purulentem Sputum oder Trachealsekret
  - neuer zunehmender Husten, Dyspnoe oder Tachypnoe
  - typische Auskultationsbefunde
  - erhöhter Sauerstoffbedarf

### Bronchitis, Tracheobronchitis, Tracheitis

keine für die Diagnose einer Pneumonie ausreichenden klinischen oder radiologischen Anzeichen und zwei der folgenden Symptome ohne andere erkennbare Ursache:

- Fieber ( $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
- Husten
- neue oder erhöhte Sputumproduktion
- trockene Rasselgeräusche
- Giemen

und eines der folgenden Kriterien:

- kultureller Nachweis von Erregern aus Trachealsekret oder bronchoalveolärer Lavage
- positiver Antigennachweis in relevanten Atemwegssekreten

### Harnwegsinfekt

Fieber  $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Harndrang, erhöhte Miktionsfrequenz, Dysurie oder suprapubische Missempfindungen und zusätzlich:

- positive Urinkultur mit mindestens  $10^5$  Kolonien je ml Urin und maximal 2 Spezies von Mikroorganismen oder alternativ:
- positiver Harnteststreifen für Leukozytenesterase oder Nitrit oder Pyurie oder Gramfärbung mit Nachweis von Mikroorganismen oder zwei Urinkulturen mit gleichem Uropathogen mit  $> 10^2$  Kolonien je ml Katheterurin oder  $< 10^5$  einzelne Uropathogene bei antimikrobieller Therapie oder Diagnose des behandelnden Arztes

### Sinusitis

eines der folgenden Kriterien:

- kultureller Nachweis von Erregern im eitrigen Sekret der Nasennebenhöhle

- eines der folgenden Anzeichen ohne andere erkennbare Ursache: Fieber ( $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), Schmerz oder Empfindlichkeit im Bereich der betroffenen Nebenhöhle, Kopfschmerzen, eitriges Exsudat oder Obstruktion der Nase

und mindestens eines der folgenden:

- Diaphonoskopie positiv
- radiologischer Hinweis auf Infektion

### Sepsis

Definition entsprechend der Society of Critical Care Medicine Consensus Conference:

- Atemfrequenz  $< 20$  /min oder  $\text{PaCO}_2 < 32$  mmHg oder mechanische Ventilation
- Herzfrequenz  $> 90$  /min ohne  $\beta$ -Blockade
- Körpertemperatur  $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$  oder  $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Leukozytenzahl  $> 12.000$  / $\text{mm}^3$  oder  $< 4000$  / $\text{mm}^3$  oder  $> 10\%$  unreife Neutrophile
- systemische Toxizität oder schlechte Organperfusion mit zwei oder mehr

charakteristischen Merkmalen:

- akutes Nierenversagen (Oligurie  $< 0,5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )
- erhöhtes Plasmalaktat ( $> 1,8$  mmol/l)
- $\text{CI} > 4,0$  l/min mit  $\text{SVR} < 800\text{ dyn}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^{-5}$
- metabolische Azidose ( $\text{pH} < 7,3$  oder Basendefizit  $> 5$ )
- arterielle Hypoxie:  $\text{PaO}_2 < 75$  mmHg ( $< 10$  kPa)
- Thrombozytenabfall innerhalb der letzten 24 h ohne anderweitige Erklärung ( $< 100.000$  /ml oder Abfall von  $50\%$  vom Ausgangswert)
- abnorme Gerinnungswerte innerhalb der letzten 24 h ohne anderweitige Erklärung (Quick  $> 1,5$  oder PTT  $> 1,2\cdot\text{Kontrollwert}$ )
- plötzlicher Abfall des Glasgow Coma Scale
- Hypotension, die anhand eines der folgenden Kriterien definiert wurde:
  - systolischer Blutdruck  $< 90$  mmHg
  - anhaltender Blutdruckabfall von  $40$  mmHg mit entsprechendem Flüssigkeitsbedarf ohne Antihypertensiva
  - Therapie mit Vasopressoren, um den Blutdruck  $> 90$  mmHg zu halten
- die Sepsis als Diagnose ist mit dem klinischen Bild vereinbar

## 6.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte in Kooperation mit Prof. Dr. K.-D. Wernecke, SOSTANA GmbH. Alle primären und sekundären Zielgrößen wurden zunächst mit Methoden der explorativen Datenanalyse untersucht und deskriptiv ausgewertet. Insbesondere wurden statistische Maßzahlen wie Mittelwert und Standardabweichung (metrisch skalierte und normalverteilte Merkmale), Median und Interquartilsdifferenz (kategoriale und nicht normalverteilte metrische Merkmale) bzw. Häufigkeiten und Proportionen (qualitative Merkmale) ermittelt. Im Rahmen der explorativen Analyse erfolgte ebenfalls die Überprüfung der Strukturgleichheit (Homogenität) der Behandlungsgruppen und die Prüfung der Verteilungen auf Normalität. Ein eventueller Unterschied in den Behandlungsgruppen wurde wegen möglicher Abweichungen von der Normalverteilung als Differenztest über den nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Test analysiert.

Sämtliche Tests wurden wegen der geringen Stichprobenumfänge, Unbalanziertheit oder nur spärlich besetzten Kontingenztafeln als exakte Tests verwendet. Klinische Parameter, die in einem Zeitverlauf gemessen wurden, wurden mit Hilfe einer multivariaten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten [47] in einem zweifaktoriellen Design (1. Faktor (unabhängig): Behandlung, 2. Faktor (abhängig): zeitliche Wiederholungen) analysiert. In der nichtparametrischen longitudinalen Analyse wurden folgende Hypothesen getestet:

1. Gibt es Unterschiede zwischen den Gruppen (über die Zeit) [Gruppe]?
2. Gibt es systematische Änderungen in der Zeit (über die Gruppen) [Zeit]?
3. Sind Wechselwirkungen zwischen Gruppenunterschieden und Zeit [Gruppe\*Zeit] feststellbar, d.h. sind mögliche Gruppenunterschiede in speziellen Zeitabschnitten besonders ausgeprägt?

Um den Einfluss der Baseline-Messung auf die Analyse zu berücksichtigen, wurde eine nichtparametrische multivariate Kovarianzanalyse [48] für Messwiederholungen analog der eben erwähnten multivariaten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten durchgeführt.

Nach dem globalen Testen dieser Hypothesen konnten explorative post-hoc-Analysen durchgeführt werden, um univariate Unterschiede in ausgewählten Zeitpunkten herauszufinden (Kruskal-Wallis-Tests).

Sämtliche Tests wurden zweiseitig, mit einem Fehler 1. Art  $\alpha = 5\%$  durchgeführt. Die erzielten p-Werte für alle Endpunkte verstehen sich als explorativ, d.h. sie lassen keine konfirmative Verallgemeinerung zu. Aus diesem Grund erfolgte keine  $\alpha$ -Adjustierung für multiples Testen.

Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Statistik Programm-Pakets IBM© SPSS© Statistics, Version 20, © Copyright 1989, 2010 SPSS Inc., an IBM Company und SAS, Version 9.1, Copyright© by SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA.

## 7. Ergebnisse

Alle 61 eingeschlossenen Patienten wurden in die Auswertung einbezogen.

### 7.1 Basischarakteristika

Nachfolgend dargestellt sind die Basischarakteristika. Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen waren lediglich bei Geschlecht signifikant.

	<b>Placebo (n = 20)</b>	<b>Mutagrip (n = 21)</b>	<b>GM-CSF (n = 20)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Alter</b> in Jahren [Median (25.-75. Perzentile)]	64,0 (55,3-73,8)	67,0 (62,0-72,0)	63,5 (52,8-70,0)	0,251 <sup>1</sup>
<b>Geschlecht</b> m/w [n/n (%/%)]	11/9 (55/45)	15/6 (71,4/28,6)	18/2 (90/10)	0,045 <sup>2</sup>
<b>BMI</b> in kg/m <sup>2</sup> [Median (25.-75. Perzentile)]	25,5 (23,6-28,3)	24,5 (21,2-29,3)	26,9 (23,2-28,1)	0,917 <sup>1</sup>
<b>Pankreas-/Ösophagusresektion</b> [n/n]	9/11	13/8	10/10	0,588 <sup>2</sup>
<b>ASA II/III</b> [n/n]	12/8	9/12	9/11	0,532 <sup>2</sup>
<b>NAS Ruhe</b> POD-1 [Median (25.-75. Perzentile)]	0 (0,00-2,75)	0 (0,00-0,00)	0 (0,00-1,75)	0,356 <sup>2</sup>
<b>NAS Belastung</b> POD-1 [Median (25.-75. Perzentile)]	0 (0,00-4,00)	0 (0,00-0,00)	0 (0,00-2,75)	0,422 <sup>2</sup>
<b>AUDIT</b> [Median (25.-75. Perzentile)]	2,5 (0,00-5,75)	1,0 (0,00-6,50)	2,5 (0,00-4,75)	0,989 <sup>2</sup>
<b>Raucher/Nichtraucher/Nie- Raucher</b> [n/n/n]	8/5/7	6/10/5	5/9/6	0,601 <sup>2</sup>

Tab. 2: Basischarakteristika getestet mit exakter Kruskal-Wallis-Test (1) bzw. Exakter Test nach Fisher (2)

## 7.2 Einfluss auf Infektparameter

### 7.2.1 Temperatur

<b>Maximum Körpertemperatur [°C] Median (25.-75. Perzentile)</b>	<b>Placebo</b>	<b>Mutagrip</b>	<b>GM-CSF</b>	<b><i>p-Wert</i></b>
POD-1	37,10 (36,95-37,45)	36,90 (36,7-37,2)	37,00 (36,58-37,28)	0,332
POD1	37,95 (37,55-38,80)	38,20 (37,48-38,65)	38,05 (37,50-38,20)	0,508
POD2	37,80 (37,73-38,46)	37,80 (37,70-38,00)	37,60 (37,23-38,28)	0,410
POD3	37,85 (37,40-38,35)	37,70 (37,35-38,00)	37,55 (37,13-38,45)	0,598
POD4	37,80 (37,30-38,20)	37,65 (37,10-38,13)	37,40 (36,90-38,20)	0,285
POD5	37,50 (37,23-37,98)	37,60 (37,00-37,90)	37,30 (37,05-38,00)	0,976

Tab. 3: Deskriptive Statistik und exakter Kruskal-Wallis-Test für Temperatur

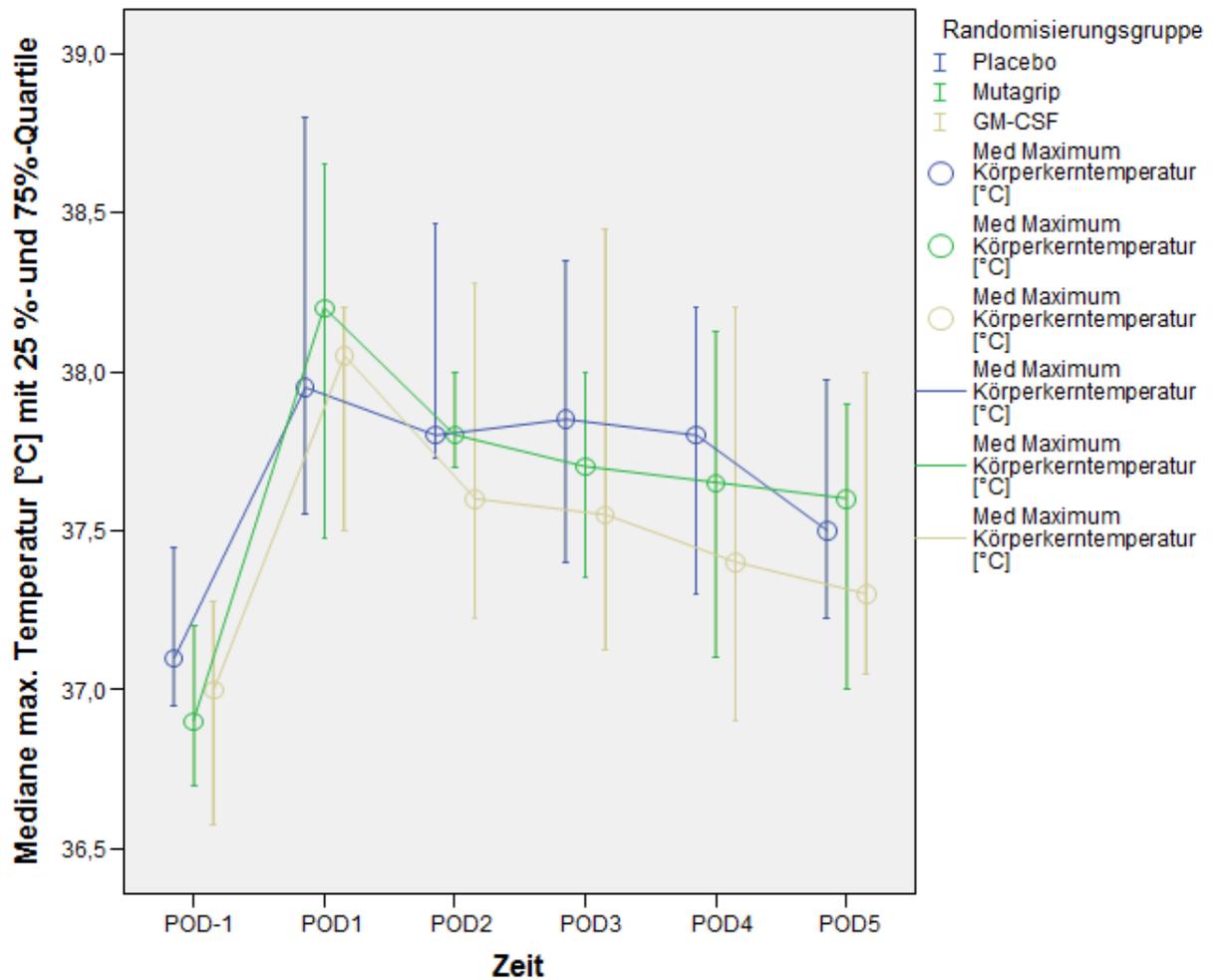


Abb. 3: Verlauf der Temperatur

Ein durchgeführter exakter Kruskal-Wallis-Test ergab keine signifikanten Unterschiede an den einzelnen Untersuchungstagen.

### 7.2.2 Leukozyten

Leukozyten [1/nl] Median (25.-75. Perzentile)	Placebo	Mutagrip	GM-CSF	<i>p-Wert</i>
OD	6,57 (4,98-7,57)	5,78 (4,94-7,97)	7,50 (5,88-8,68)	0,053
POD1	10,02 (7,69-12,68)	10,08 (8,37-14,39)	10,05 (8,20-13,34)	0,843
POD2	11,19 (8,01-12,89)	10,79 (9,17-14,73)	17,19 (11,63-20,04)	0,018
POD3	9,95 (7,24-13,32)	9,80 (8,55-14,25)	11,57 (8,14-14,03)	0,624

POD4	9,42 (6,43-12,92)	8,13 (6,75-13,01)	10,61 (8,27-14,17)	0,401
POD5	9,03 (6,45-10,91)	9,61 (7,63-12,57)	11,62 (8,32-14,47)	0,142

Tab. 4: Deskriptive Statistik und exakter Kruskal-Wallis-Test für Leukozyten

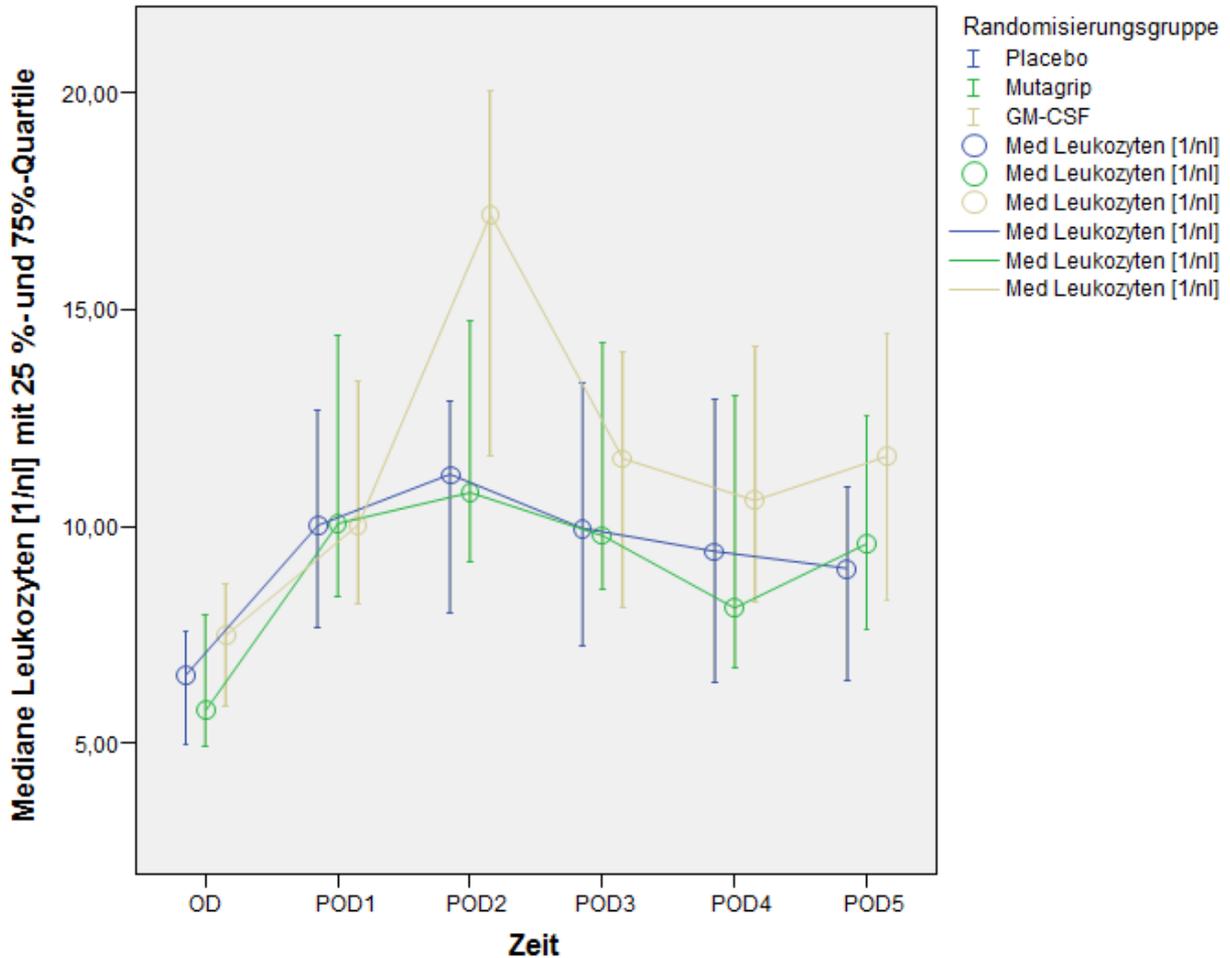


Abb. 4: Verlauf der Leukozyten

Ein durchgeführter exakter Kruskal-Wallis-Test ergab einen signifikanten Unterschied am POD2 ( $p = 0,018$ ), woraufhin ein exakter Mann-Whitney-U-Test für Paarvergleiche durchgeführt wurde. Dieser ergab einen signifikanten Unterschied zwischen der Placebo- und der GM-CSF-Gruppe ( $p = 0,003$ ), in der die Leukozytenzahl deutlich erhöht war.

	Placebo*Mutagrip	Placebo*GM-CSF	Mutagrip*GM-CSF
<b>p-Wert</b>	0,548	0,003	0,065

Tab. 5: Exakter Mann-Whitney-U-Test für Leukozyten am POD2

Weiterhin waren Leukozyten in einer multivariaten Analyse (Leukozyten und Gruppe als Einflussfaktoren auf Infektionen) positiv mit Infektionen über den gesamten Beobachtungszeitraum korreliert (Odds Ratio 1,04; 95%-KI: 1,020 – 1,075;  $p = 0,001$ ). Allerdings gab es keinen Zusammenhang während des Zeitraums POD1 bis POD3, als das Studienmedikament verabreicht wurde.

### 7.2.3 C-reaktives Protein (CRP)

<b>CRP [mg/dl]</b> Median (25.-75. Perzentile)	Placebo	Mutagrip	GM-CSF	<i>p-Wert</i>
OD	0,95 (0,31-1,81)	0,41 (0,04-1,01)	3,00 (1,51-6,12)	<i>0,064</i>
POD1	8,99 (7,67-11,78)	8,74 (7,26-10,41)	7,82 (6,84-12,78)	<i>0,825</i>
POD2	17,77 (11,20-27,14)	14,24 (9,74-23,13)	16,89 (12,79-18,68)	<i>0,773</i>
POD3	17,39 (8,83-24,78)	16,01 (9,06-22,17)	15,39 (9,14-17,94)	<i>0,496</i>
POD4	11,28 (8,61-16,22)	12,44 (5,79-14,67)	10,81 (6,85-13,13)	<i>0,793</i>
POD5	9,29 (6,89-14,20)	9,92 (5,66-14,53)	8,36 (5,38-10,75)	<i>0,635</i>

Tab. 6: Deskriptive Statistik und exakter Kruskal-Wallis-Test für CRP

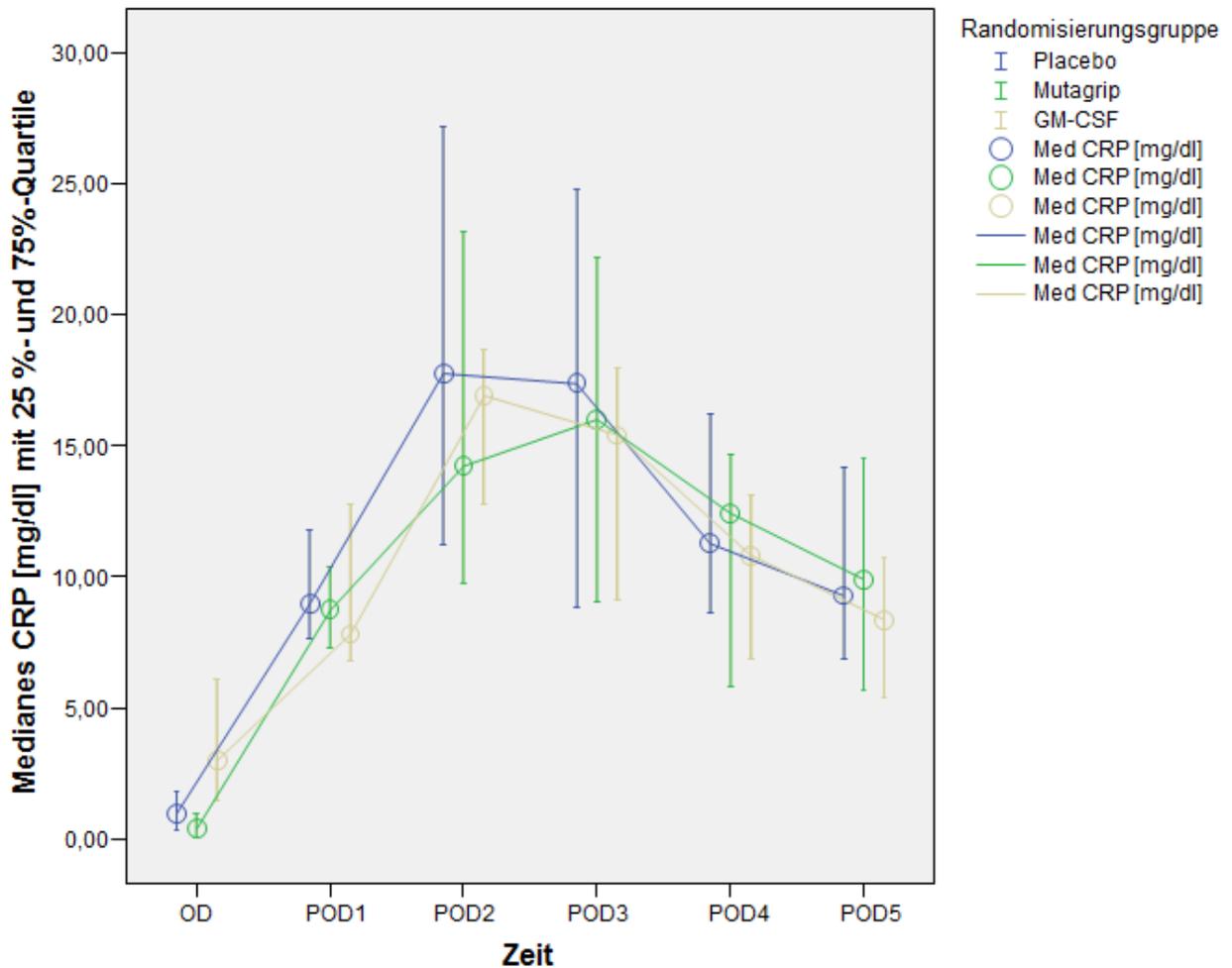


Abb. 5: Verlauf von CRP

Ein durchgeführter exakter Kruskal-Wallis-Test ergab keine signifikanten Unterschiede an den einzelnen Untersuchungstagen.

#### 7.2.4 Procalcitonin (PCT)

PCT [ng/ml] Median (25.-75. Perzentile)	Placebo	Mutagrip	GM-CSF	<i>p</i> -Wert
OD	0,09 (0,07-0,12)	0,07 (0,05-0,08)	0,08 (0,06-0,09)	0,083
POD1	1,00 (0,73-2,85)	0,99 (0,47-1,25)	0,71 (0,45-1,25)	0,370
POD2	1,13 (0,43-1,97)	0,59 (0,35-0,91)	0,53 (0,48-0,93)	0,534
POD3	0,87 (0,29-1,27)	0,43 (0,20-1,01)	0,35 (0,23-0,61)	0,322

POD4	0,33 (0,21-0,67)	0,26 (0,14-0,80)	0,25 (0,16-0,36)	0,585
POD5	0,26 (0,15-0,59)	0,19 (0,11-0,75)	0,18 (0,10-0,26)	0,424

Tab. 7: Deskriptive Statistik und exakter Kruskal-Wallis-Test für PCT

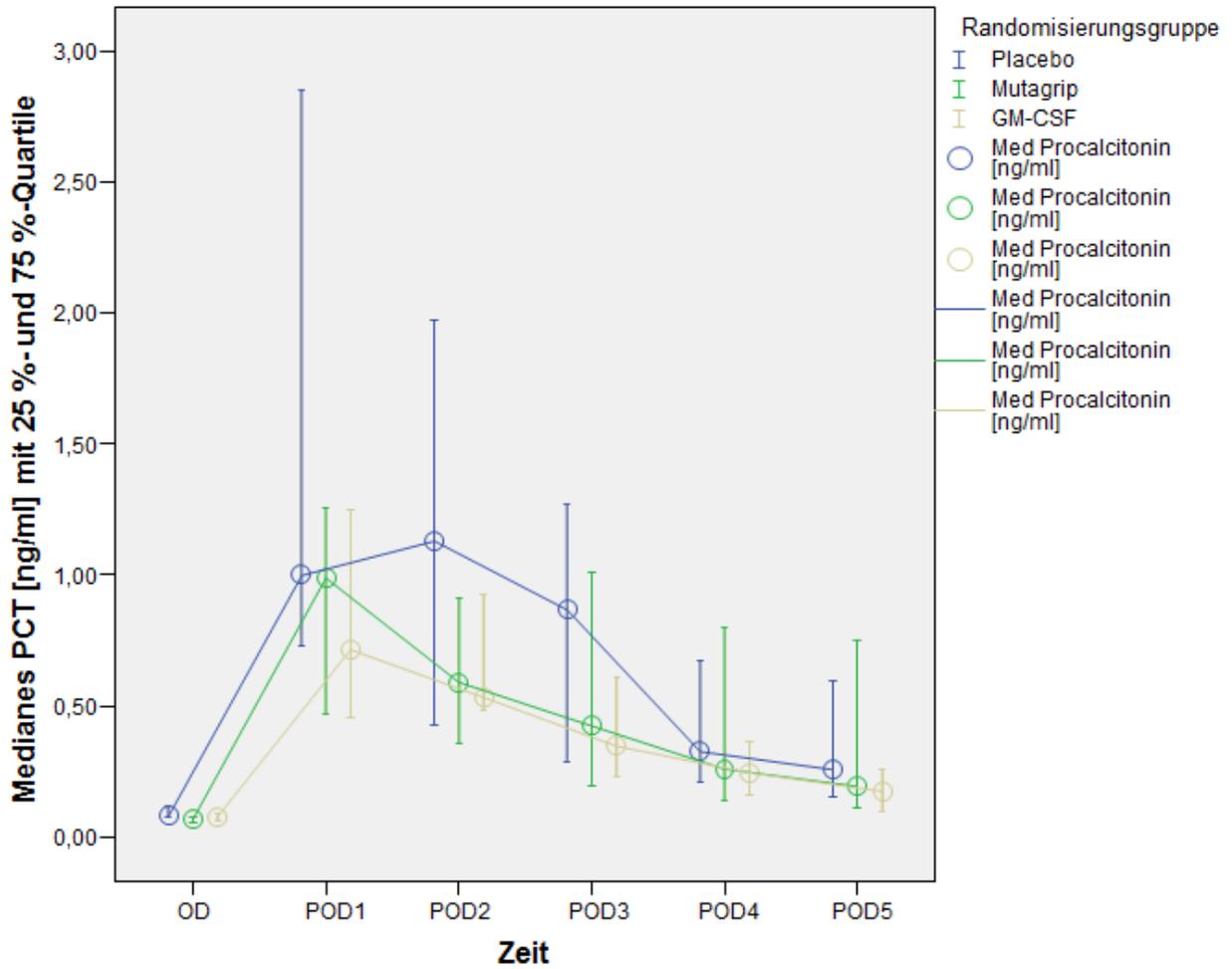


Abb. 6: Verlauf von PCT

Ein durchgeführter exakter Kruskal-Wallis-Test ergab keine signifikanten Unterschiede an den einzelnen Untersuchungstagen.

### 7.2.5 Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 [pg/ml] Median (25.-75. Perzentile)	Placebo	Mutagrip	GM-CSF	p-Wert
OD	2,45 (2,00-5,15)	2,65 (2,00-6,35)	4,30 (2,23-11,13)	0,336
POD1	76,40 (48,28-168,75)	92,55 (55,35-216,25)	116,50 (58,40-173,25)	0,766
POD2	52,20 (21,73-102,58)	72,85 (42,83-121,25)	81,20 (52,30-117,00)	0,266
POD3	53,50 (44,13-101,80)	43,50 (27,83-63,35)	39,70 (29,03-50,43)	0,174
POD4	38,25 (28,63-139,50)	23,65 (16,70-46,23)	33,70 (20,33-81,43)	0,311
POD5	39,00 (21,90-80,85)	19,80 (15,45-33,98)	25,60 (14,38-49,83)	0,151

Tab. 8: Deskriptive Statistik und exakter Kruskal-Wallis-Test für IL-6

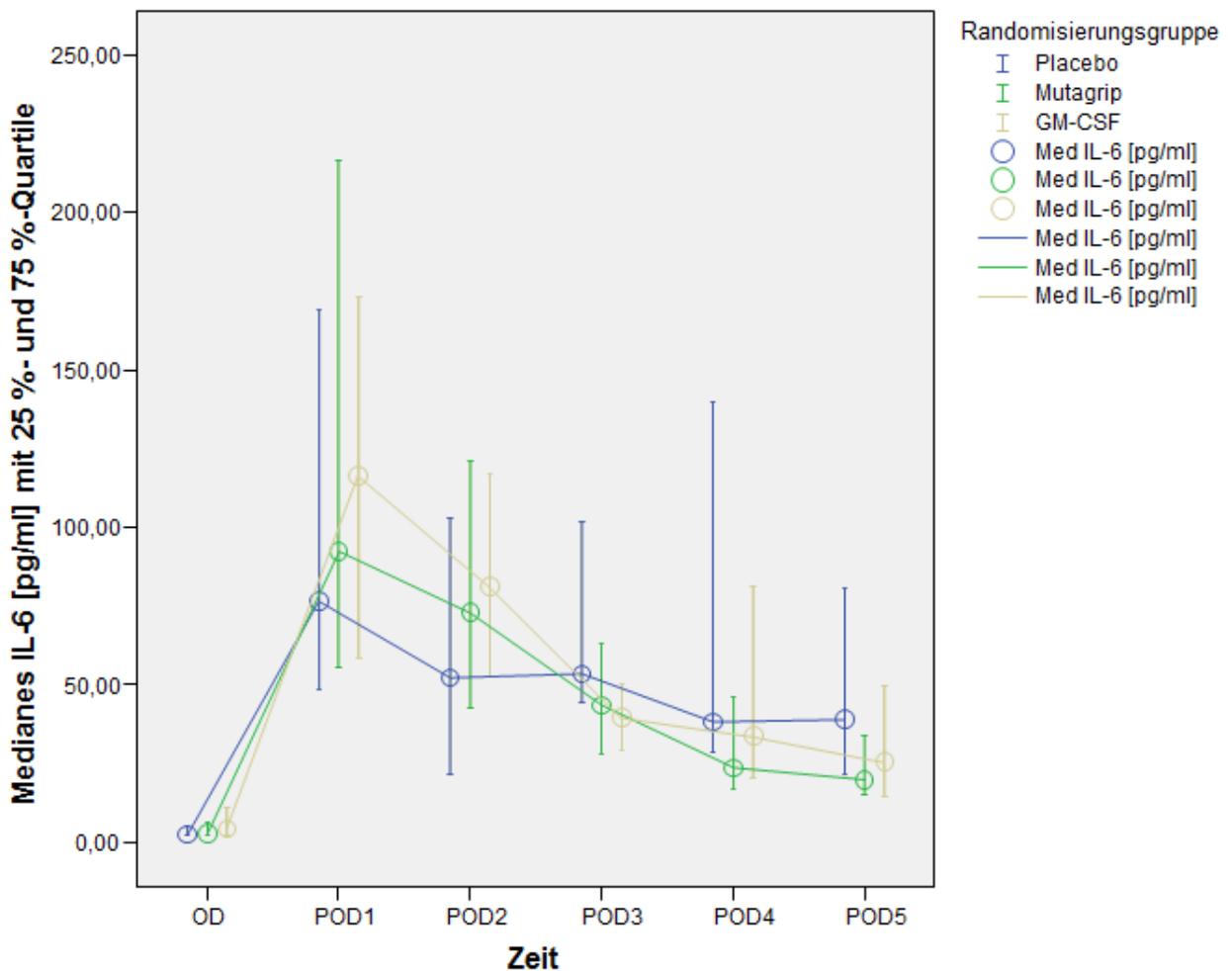


Abb. 7: Verlauf von IL-6

Ein durchgeführter exakter Kruskal-Wallis-Test ergab keine signifikanten Unterschiede an den einzelnen Untersuchungstagen.

### 7.3 Multivariate Varianz- und Kovarianzanalyse

Im nächsten Schritt wurde (wegen der geringen Anzahl von Patienten) eine nichtparametrische multivariate Analyse für longitudinale Daten in einem zweifaktoriellen Design (1. Faktor (unabhängig): Gruppe; 2. Faktor (abhängig): zeitliche Wiederholungen), auch als nichtparametrische Varianzanalyse für Messwiederholungen bezeichnet, mit den Faktoren Gruppe (Placebo, Mutagrip, GM-CSF) und Zeit (POD-1, POD1-POD5) durchgeführt. In dieser Analyse wurden drei Hypothesen geprüft:

1. Gibt es Unterschiede zwischen den Gruppen (über die Zeit) [Gruppe]?
2. Gibt es systematische zeitliche Veränderungen (über die Gruppen) [Zeit]?
3. Sind Wechselwirkungen zwischen Gruppe und Zeit festzustellen, d.h. sind die

Unterschiede in den Gruppen in bestimmten Zeiten besonders ausgeprägt [Gruppe\*Zeit]?

Diese Analyse ergab für die verschiedenen Infektparameter keine signifikanten Unterschiede zwischen den Interventionsgruppen. Lediglich eine Tendenz war bei den Leukozyten zwischen Placebo und GM-CSF ( $p = 0,06$ ) erkennbar. Dagegen war ein systematischer Zeiteffekt in allen Parametern feststellbar ( $p < 0,001$ ).

	Temperatur	Leukozyten	CRP	PCT	IL-6
	<i>p-Werte</i>				
Gruppe	0,42767	0,18614	0,79785	0,35247	0,65302
Zeit	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Gruppe*Zeit	0,85461	0,25652	0,76703	0,75322	0,03188
<i>Vergleich Placebo*Mutagrip</i>					
Gruppe	0,39488	0,56463	0,58170	0,29271	0,39817
Zeit	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Gruppe*Zeit	0,78630	0,56958	0,85674	0,72159	0,03231
<i>Vergleich Placebo*GM-CSF</i>					
Gruppe	0,23589	0,06094	0,52610	0,14068	0,83055
Zeit	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Gruppe*Zeit	0,76138	0,19326	0,62145	0,63261	0,02267
<i>Vergleich Mutagrip*GM-CSF</i>					
Gruppe	0,59704	0,21312	0,94017	0,77574	0,46217

Zeit	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Gruppe*Zeit	0,67825	0,23710	0,51773	0,57639	0,71971

Tab. 9: Nichtparametrische Varianzanalyse für Messwiederholungen

Um den Einfluss der Baseline-Messung auf die Analyse zu berücksichtigen, wurde eine nichtparametrische multivariate Kovarianzanalyse für Messwiederholungen mit dem Wert zum Zeitpunkt POD1 (Baseline) als Kovariate, der Interventionsgruppe (Placebo, Mutagrip, GM-CSF) als unabhängiger Faktor und der Zeit (POD2-POD5) als abhängiger Faktor durchgeführt. Bei den Leukozyten wurde eine Signifikanz ( $p = 0,027$ ) zwischen den Interventionsgruppen errechnet. Der Faktor Zeit war bei allen Infektparametern signifikant (alle  $p < 0,05$ ).

	Temperatur	Leukozyten	CRP	PCT	IL-6
	<i>p-Werte</i>				
Gruppe	0,8904294	0,0271784	0,9489163	0,757171	0,2120714
Zeit	0,0032314	8,678E-12	1,4299E-8	1,477E-14	0,0000237
Gruppe*Zeit	0,9219161	0,3087991	0,4713005	0,59411738	0,0399196

Tab. 10: Nichtparametrische Kovarianzanalyse für Messwiederholungen

## 7.4 Einflussfaktoren auf Infektionen bzw. SIRS

### Einflussfaktoren auf Infektionen

Insgesamt traten bei 61 untersuchten Patienten 28 Infektionen auf. Die Intervention hatte dabei keinen signifikanten Einfluss auf die Verteilung, lediglich das Rauchverhalten wurde mittels eines exakten Chi-Quadrat-Tests als signifikant ( $p = 0,006$ ) errechnet.

	keine Infektion	Infektion	gesamt
<b>Randomisierungsgruppe</b>			
Placebo	9 (27,3 %)	11 (39,3 %)	20 (32,8 %)
Mutagrip	12 (36,4 %)	9 (32,1 %)	21 (34,4 %)
GM-CSF	12 (36,4 %)	8 (28,6 %)	20 (32,8 %)
<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: <math>p = 0,599</math></i>			
<b>Geschlecht</b>			
männlich	21 (63,6 %)	23 (82,1 %)	44 (72,1 %)
weiblich	12 (36,4 %)	5 (17,9 %)	17 (27,9 %)

<i>Exakter Test nach Fisher: p = 0,154</i>			
<b>ASA</b>			
II	17 (51,5 %)	13 (46,5 %)	28 (49,2 %)
III	16 (48,5 %)	15 (53,6 %)	31 (50,8 %)
<i>Exakter Test nach Fisher: p = 0,799</i>			
<b>Raucher</b>			
Raucher	6 (18,2 %)	13 (46,4 %)	19 (31,1 %)
Nichtraucher	12 (36,4 %)	12 (42,9 %)	24 (39,3 %)
Nie-Raucher	15 (45,5 %)	3 (10,7 %)	18 (29,5 %)
<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: p = 0,006</i>			
<b>OP-Indikation</b>			
Ösophagus	14 (42,4 %)	15 (53,6 %)	29 (47,5 %)
Pankreas	19 (57,6 %)	13 (46,4 %)	32 (52,5 %)
<i>Exakter Test nach Fisher: p = 0,446</i>			
<b>NAS Schmerz in Ruhe POD-1</b>			
0	25 (75,8 %)	20 (71,4 %)	45 (73,8 %)
1	1 (3,0 %)	1 (3,6 %)	2 (3,3 %)
2	3 (9,1 %)	1 (3,6 %)	4 (6,6 %)
3	2 (6,1 %)	3 (10,7 %)	5 (8,2 %)
4	0 (0,0 %)	2 (7,1 %)	2 (3,3 %)
5	0 (0,0 %)	1 (3,6 %)	1 (1,6 %)
6	1 (3,0 %)	0 (0,0 %)	1 (1,6 %)
8	1 (3,0 %)	0 (0,0 %)	1 (1,6 %)
<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: p = 0,616</i>			

Tab. 11: Einflussfaktoren auf Infektionen getestet mit exaktem Chi-Quadrat-Test bzw. Exakter Test nach Fisher

Mittels einer logistischen Regression wurde der Einfluss der Intervention der Studie, des Alters, Geschlechts, BMI, ASA, NAS Schmerz präoperativ in Ruhe bzw. bei Belastung, AUDIT, Rauchverhaltens sowie der OP-Indikation auf postoperative Infektionen untersucht. Als signifikanter Einflussfaktor konnte dabei sowohl mit der Methode ‚Einschluss‘ und ebenso mit ‚Schrittweise Rückwärts‘ das Rauchverhalten ermittelt werden. Dabei hatten Raucher im Vergleich zu Nie-Rauchern ein 10,8-fach höheres und Nichtraucher im Vergleich zu Nie-Rauchern ein 5-fach höheres Infektionsrisiko.

Parameter	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Wert	Odds-Ratio	95%-KI
Rauchverhalten			0,012 (global)		
Raucher	2,383	0,802	0,003 (vs. Nie-Raucher)	10,833 (vs. Nie-Raucher)	2,249 – 52,195
Nichtraucher	1,609	0,753	0,033 (vs. Nie-Raucher)	5,000 (vs. Nie-Raucher)	1,143 – 21,864

Tab. 12: Logistische Regression der Methode ‚Einschluss‘ und ‚Schrittweise Rückwärts‘

### Einflussfaktoren auf SIRS

Insgesamt traten bei 61 untersuchten Patienten 27 Fälle von SIRS auf. Die Intervention hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Verteilung. Mittels eines exakten Chi-Quadrat-Tests bzw. Exakten Tests nach Fisher wurde ein signifikanter Einfluss des Geschlechts ( $p = 0,011$ ) und der OP-Indikation ( $p = 0,010$ ) ermittelt. Eine Tendenz ( $p = 0,091$ ) konnte beim Rauchverhalten nachgewiesen werden.

	kein SIRS	SIRS	gesamt
<b>Randomisierungsgruppe</b>			
Placebo	12 (35,3 %)	8 (29,6 %)	20 (32,8 %)
Mutagrip	11 (32,4 %)	10 (37,0 %)	21 (34,4 %)
GM-CSF	11 (32,4 %)	9 (33,3 %)	20 (32,8 %)
<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: <math>p = 0,884</math></i>			
<b>Geschlecht</b>			
männlich	20 (58,8 %)	24 (88,9 %)	44 (72,1 %)
weiblich	14 (41,2 %)	3 (11,1 %)	17 (27,9 %)
<i>Exakter Test nach Fisher: <math>p = 0,011</math></i>			
<b>ASA</b>			
II	16 (47,0 %)	14 (51,9 %)	30 (49,2 %)
III	18 (52,9 %)	13 (48,1 %)	31 (50,8 %)
<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: <math>p = 0,799</math></i>			
<b>Raucher</b>			
Raucher	7 (20,6 %)	12 (44,4 %)	19 (31,1 %)
Nichtraucher	14 (41,2 %)	10 (37,0 %)	24 (39,3 %)
Nie-Raucher	13 (38,2 %)	5 (18,5 %)	18 (29,5 %)

<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: p = 0,091</i>			
<b>OP-Indikation</b>			
Ösophagus	11 (32,4 %)	18 (66,7 %)	29 (47,5 %)
Pankreas	23 (67,6 %)	9 (33,3 %)	32 (52,5 %)
<i>Exakter Test nach Fisher: p = 0,010</i>			
<b>NAS Schmerz in Ruhe POD-1</b>			
0	23 (67,6 %)	22 (81,5 %)	45 (73,8 %)
1	0 (0,0 %)	2 (7,4 %)	2 (3,3 %)
2	4 (11,8 %)	0 (0,0 %)	4 (6,6 %)
3	2 (5,9 %)	3 (11,1 %)	5 (8,2 %)
4	2 (5,9 %)	0 (0,0 %)	2 (3,3 %)
5	1 (2,9 %)	0 (0,0 %)	1 (1,6 %)
6	1 (2,9 %)	0 (0,0 %)	1 (1,6 %)
8	1 (2,9 %)	0 (0,0 %)	1 (1,6 %)
<i>Exakter Chi-Quadrat-Test: p = 0,117</i>			

Tab. 13: Einflussfaktoren auf SIRS getestet mit exaktem Chi-Quadrat-Test bzw. Exakter Test nach Fisher

Mittels einer logistischen Regression wurde der Einfluss der Intervention der Studie, des Alters, Geschlechts, BMI, ASA, NAS Schmerz präoperativ in Ruhe bzw. bei Belastung, AUDIT, Rauchverhaltens sowie der OP-Indikation auf postoperatives SIRS untersucht. Als signifikante Einflussfaktoren konnten dabei mit der Methode ‚Schrittweise Rückwärts‘ NAS Schmerz präoperativ in Ruhe, das Rauchverhalten und die OP-Indikation ermittelt werden. Dabei hatten Raucher im Vergleich zu Nie-Rauchern ein 7,3-fach höheres und Patienten nach Ösophagusresektion im Vergleich zu Pankreasresektion ein 5,8-fach höheres SIRS-Risiko. Bei Patienten mit stärkeren präoperativen Schmerzen verminderte sich das SIRS-Risiko auf das 0,6-fache.

<b>Parameter</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Odds-Ratio</b>	<b>95%-KI</b>
NAS Schmerz Ruhe POD-1	-0,484	0,213	0,023	0,616	0,406 – 0,935
Rauchverhalten			0,049 (global)		
Raucher	1,993	0,861	0,021 (vs. Nie-Raucher)	7,338 (vs. Nie-Raucher)	1,358 – 39,657
OP-Indikation Ösophagusres.	1,753	0,641	0,006 (vs. Pankreasres.)	5,772 (vs. Pankreasres.)	1,644 – 20,262

Tab. 14: Logistische Regression der Methode ‚Schrittweise Rückwärts‘

## Einflussfaktoren auf Infektionen und/oder SIRS

Mittels einer logistischen Regression wurde untersucht, ob das Rauchverhalten, das Geschlecht und die OP-Indikation Einfluss auf das Auftreten von SIRS bzw. Infektionen hatte (SIRS oder Infektion oder beides versus weder SIRS noch Infektion). Mit der Methode ‚Einschluss‘ konnte das Rauchverhalten als signifikant bestätigt werden. Raucher hatten hier im Vergleich zu Nie-Rauchern ein 6-fach höheres Risiko für SIRS oder Infektionen.

<b>Parameter</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Odds-Ratio</b>	<b>95%-KI</b>
Rauchverhalten			0,070 (global)		
Raucher	1,790	0,875	0,041 (vs. Nie-Raucher)	5,992 (vs. Nie-Raucher)	1,079 – 33,279

Tab. 15: Logistische Regression der Methode ‚Einschluss‘

Wegen der geringen Patientenzahlen (im Verhältnis zu den eingeschlossenen Variablen) wurden die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6 einzeln jeweils mit separaten logistischen Regressionen, gemeinsam mit den Faktoren Rauchverhalten, Geschlecht und OP-Indikation mit der Methode ‚Einschluss‘, untersucht. Dabei erwies sich keiner der genannten Infektparameter als signifikant, allerdings wurde das Rauchverhalten bei den jeweiligen logistischen Regressionen als signifikant bestätigt (alle  $p < 0,05$ ).

<b>Parameter</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>	<b>Standardfehler</b>	<b>p-Wert</b>	<b>Odds-Ratio</b>	<b>95%-KI</b>
Temperatur	0,450	0,992	0,650	1,569	0,225 – 10,960
Leukozyten	0,010	0,214	0,963	1,010	0,664 – 1,536
CRP	-25,412	4968,798	0,996	0,000	0,000 – ...
PCT	-34,185	22,549	0,130	0,000	0,000 – 22246,399
IL-6	-0,066	0,078	0,402	0,937	0,804 – 1,092

Tab. 16: Logistische Regression der Methode ‚Einschluss‘

In einer weiteren logistischen Regression mit der Methode ‚Einschluss‘ wurden die genannten Infektparameter Temperatur, Leukozyten und IL-6 als Einflussfaktoren auf SIRS oder

Infektionen, ohne die Faktoren Rauchverhalten, Geschlecht und OP-Indikation, untersucht. Keiner der Infektparameter war signifikant.

Parameter	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Wert	Odds-Ratio	95%-KI
Temperatur	-0,109	1,367	0,936	0,839	0,062 – 13,062
Leukozyten	0,455	0,369	0,218	1,576	0,764 – 3,252
IL-6	-0,063	0,073	0,383	0,939	0,814 – 1,082

Tab. 17: Logistische Regression der Methode ‚Einschluss‘

## 7.5 Einfluss auf den Beginn der Infektionen bzw. SIRS

Der Beginn der Infektion bzw. SIRS wurde durch eine Variable dargestellt, die angab, an welchem postoperativen Tag (POD) die Infektion bzw. SIRS zuerst aufgetreten war. Damit wies diese Variable einen Wertebereich von 1 bis 9 auf. Diese Skala zugrunde gelegt, unterschieden sich die Behandlungen in Bezug auf Infektionen nicht signifikant (Mediane: Placebo: Beginn am POD3, Mutagrip: Beginn am POD4, GM-CSF: Beginn zwischen POD6 und POD7).

Eine analoge Auswertung in Bezug auf den Beginn von SIRS ergab mit dem exakten Kruskal-Wallis-Test einen signifikanten Unterschied zwischen den Interventionsgruppen ( $p = 0,039$ ), woraufhin ein exakter Mann-Whitney-U-Test für Paarvergleiche durchgeführt wurde. Dieser ergab einen signifikanten Unterschied zwischen Placebo und Mutagrip ( $p = 0,027$ ), in dessen Gruppe SIRS später auftrat.

Eine analoge Auswertung in Bezug auf den Beginn von SIRS bzw. Infektionen (SIRS oder Infektion oder beides) ergab mit dem exakten Kruskal-Wallis-Test keinen signifikanten Unterschied zwischen den Interventionsgruppen.

Median (25.-75. Perzentile)	Placebo	Mutagrip	GM-CSF	p-Wert
<b>Infektion</b>	3 (1-6)	4 (2,5-5)	6,5 (1,5-8)	0,366
<b>SIRS</b>	1 (1-1,75)	2,5 (1,75-6,25)	2 (1-2)	0,039
<b>SIRS und/oder Infektion</b>	1 (1-2,75)	2 (2-4)	2 (1-4,5)	0,131

Tab. 18: Exakter Kruskal-Wallis-Test für den Beginn der Infektion, SIRS bzw. Infektion und/oder SIRS

	<b>Placebo*Mutagrip</b>	<b>Placebo*GM-CSF</b>	<b>Mutagrip*GM-CSF</b>
<b>p-Wert</b>	0,027	0,236	0,133

*Tab. 19: Exakter Mann-Whitney-U-Test für den Beginn von SIRS*

## **8. Diskussion**

### **8.1 Hauptergebnisse**

Eine postoperative Gabe von GM-CSF erhöhte signifikant die Leukozytenzahl am 2. postoperativen Tag, während die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6 durch eine postoperative Gabe von Mutagrip und die Infektparameter Temperatur, CRP, PCT und IL-6 durch eine postoperative Gabe von GM-CSF nicht signifikant beeinflusst wurden.

Nach aktuellem Kenntnisstand untersuchte diese Arbeit erstmalig den postoperativen Einfluss der Medikamente GM-CSF bzw. Mutagrip auf die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6.

### **8.2 Vergleich mit anderen Studien**

Da eine Gabe von GM-CSF bisher postoperativ nicht durchgeführt wurde, erfolgt der Vergleich mit Studien, die die Gabe bei immunsupprimierten Patienten während einer Sepsis untersuchten. Die Gabe von Mutagrip zur Immunstimulation wurde bisher nur von Spies et al. [29] geprüft. Sie schlossen 40 Patienten mit einem Tumor des oberen Atemweges in ihre Studie ein, von denen 22 Patienten konservativ und 18 Patienten chirurgisch versorgt wurden. In beiden Fällen erfolgte eine Gabe von Mutagrip oder Placebo zur Immunstimulation, die bei den chirurgischen Patienten im Vergleich zu dieser Arbeit, in der eine postoperative Gabe erfolgte, lediglich präoperativ verabreicht wurde; allerdings untersuchten sie keine Infektparameter. Zwei Studien untersuchten die Vakzination mit Influenza-Impfstoff bei gesunden Erwachsenen mit Fokus auf Infektparameter: Tsai et al. [49] schlossen 22 Probanden ein und konnten zeigen, dass IL-6 am ersten Tag und CRP am ersten und dritten Tag nach der Gabe signifikant ansteigt, wobei am zweiten Tag keine Messung stattfand. Posthouwer et al. [50] untersuchten 19 Erwachsene und fanden heraus, dass CRP signifikant mit einem Maximum am zweiten Tag nach der Gabe ansteigt. Die beiden Studien stehen im Gegensatz zu dieser Arbeit, in der keine Unterschiede zwischen den Gruppen erkennbar waren. Ursache für diesen Unterschied könnte der postoperative Verlauf sein, da CRP und IL-6 generell in der postoperativen Phase ansteigen [7] und dieser Effekt deshalb möglicherweise nicht sichtbar wurde.

Meisel et al. [22] zeigten in ihrer Studie nach achttägiger GM-CSF-Gabe ebenfalls keine signifikanten Änderungen von PCT und IL-6. Sie schlossen 38 immunsupprimierte Patienten während einer Sepsis mit einer HLA-DR-Expression  $< 8.000$  Antigene/Monozyt ein und

untersuchten die Infektparameter jeweils am 5. und 8. Behandlungstag. Nierhaus et al. [24] schlossen 9 Patienten während einer schweren Sepsis mit einer HLA-DR-Expression  $< 150$  MFI ein. Die GM-CSF-Gabe erfolgte über 3 Tage, während die Infektparameter täglich gemessen wurden. Sie erreichten ebenfalls keine signifikanten Änderungen von PCT, IL-6 und Temperatur, allerdings verminderte sich CRP signifikant. Ursache dieser Diskrepanz zu den Ergebnissen dieser Arbeit könnte das Studiendesign sein, da diese Parameter lediglich longitudinal und nicht Placebo-kontrolliert untersucht wurden und in Studien gezeigt wurde, dass CRP nach größeren abdominalen Operationen ansteigt [43].

Im Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit erhöhte sich die Leukozytenzahl nach GM-CSF-Gabe signifikant bei Nierhaus et al. [24] und Rosenbloom et al. [51], die 33 Patienten während einer Sepsis in ihre Studie einschlossen. Diese wurden 3 Tage mit GM-CSF behandelt und die Leukozytenzahl 24 Stunden nach der ersten Gabe bestimmt.

Obwohl die GM-CSF-Gabe in diesen Studien nicht postoperativ, sondern während einer Sepsis untersucht wurde, zeigten die Infektparameter mit Ausnahme von CRP bei Nierhaus et al. [24] das gleiche Verhalten wie in dieser Arbeit. Zum postoperativen Einfluss von Mutagrip auf Infektparameter sind in der Literatur bis zum jetzigen Zeitpunkt keine Studien bekannt.

### **8.3 Sekundäre Endpunkte**

GM-CSF hatte weder einen signifikanten Einfluss auf die Anzahl, noch auf den Beginn der postoperativen Infektionen. Zwar ist eine Erhöhung der HLA-DR-Expression postoperativ [23] und bei Patienten mit Sepsis [22, 24] durch GM-CSF-Gabe gezeigt worden, allerdings gab es dabei keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten von Infektionen. Eine aktuelle Metaanalyse [52] bestätigt das Ergebnis: eine GM-CSF-Gabe senkt nicht signifikant die Infektionsrate. Studien über den Beginn einer Infektion nach GM-CSF-Gabe sind bisher in der Literatur nicht zu finden.

Ebenso hatte Mutagrip keinen signifikanten Einfluss auf die postoperative Infektionsrate und den Beginn einer Infektion. Bisher wurde eine Mutagrip-Gabe nur von Spies et al. [29] untersucht. Allerdings änderte sich dabei postoperativ weder die HLA-DR-Expression, noch die Infektionsrate, analog zu den Ergebnissen dieser Arbeit, signifikant. Der Beginn einer Infektion wurde von Spies et al. nicht untersucht.

Das postoperative Auftreten oder der Beginn von SIRS wurden ebenso durch GM-CSF nicht signifikant beeinflusst. Auch hier gibt es bisher keine vergleichbaren Untersuchungen.

Mutagrip hingegen hat keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl von SIRS, allerdings trat dessen Beginn signifikant später auf. Spies et al. [29] untersuchten in ihrer Studie diesen Zusammenhang nicht. Da aber nur der Beginn hinausgezögert und nicht die Anzahl beeinflusst wurde, könnte Mutagrip möglicherweise die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-12 und TNF- $\alpha$  supprimieren, sodass diese nur noch verzögert freigesetzt werden. Diese spielen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von SIRS [53]. IL-6 zählt zwar auch zu den pro-inflammatorischen Zytokinen, allerdings zeigten sich in dieser Arbeit keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. In weiteren Studien sollten die Zytokine bestimmt und dieser Zusammenhang weiter untersucht werden.

#### **8.4 Einflussfaktoren auf Infektionen bzw. SIRS**

##### Rauchverhalten

In dieser Arbeit wurden weiterhin Einflussfaktoren auf Infektionen bzw. SIRS untersucht. Raucher entwickelten postoperativ signifikant häufiger Infektionen als Nichtraucher und Nie-Raucher. Almirall et al. [54] verglichen in ihrer Studie 205 an einer ambulant erworbenen Pneumonie erkrankten Patienten mit 475 gesunden Erwachsenen ohne Infektion hinsichtlich ihres Rauchverhaltens und ermittelten eine 32 % höhere Infektanfälligkeit für Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern. Auch Nuorti et al. [55] untersuchten das Rauchverhalten von 228 an einer Pneumokokken-Infektion erkrankten Patienten im Vergleich zu 301 gesunden Erwachsenen. In ihrer Studie hatten Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern sogar eine 51 % höhere Infektanfälligkeit. Sorensen et al. [56] verglichen 48 Raucher mit 30 Nichtrauchern und entnahmen Stanzbiopsien bei diesen Patienten. Sie konnten zeigen, dass Raucher ein signifikant höheres Risiko für Wundinfektionen im Vergleich zu Nichtrauchern haben.

Durch physikalische und chemische Einflüsse des Tabakrauchs kommt es zu oxidativem Stress und Veränderungen in der Reaktionsfähigkeit der Entzündungszellen, die die vermehrte Infektanfälligkeit erklären [57]. Moller et al. [58] konstatieren, dass ein Interventionsprogramm für Raucher 6 bis 8 Wochen vor einer Operation die postoperative Morbidität signifikant senkt.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine mit der Literatur im Einklang stehende, vermehrte Infektanfälligkeit für Raucher auch auf Infektionen in der postoperativen Phase zutrifft.

Raucher entwickelten postoperativ auch signifikant häufiger SIRS als Nie-Raucher. Da bei Rauchern signifikant häufiger Infektionen auftraten und SIRS als eine mögliche Vorstufe einer Infektion in dieser Arbeit signifikant mit Infektionen korreliert war, könnte so der Einfluss des

Rauchverhaltens auf SIRS erklärt werden. In der Literatur sind bisher leider keine Studien zu finden, die den Einfluss des Rauchverhaltens auf SIRS beschreiben.

### Geschlecht

Männer entwickelten postoperativ signifikant häufiger SIRS als Frauen. Ono et al. [59] untersuchten in ihrer Studie 25 Patienten nach Gastrektomie (16 Männer/9 Frauen), von denen acht Männer und lediglich eine Frau postoperatives SIRS entwickelten. Dass ihr Ergebnis allerdings nicht signifikant war ( $p = 0,07$ ), könnte an ihrem geringen Patientenkollektiv liegen.

Obwohl in dieser Arbeit SIRS signifikant mit Infektionen korrelierte, hatte im Gegensatz dazu das Geschlecht keinen Einfluss auf Infektionen. Im Unterschied dazu konnten Nachtigall et al. [60] in einer Studie mit 709 Patienten einer Intensivstation zeigen, dass Frauen im Vergleich zu Männern eine höhere Mortalitätsrate für Sepsis haben. Auch gab es in ihrer Studie keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in Hinblick auf SIRS. Combes et al. [61] schlossen 5.081 Patienten einer Intensivstation ein, von denen 1.341 eine nosokomiale Infektion entwickelten. Sie konnten zeigen, dass die Mortalitätsrate auf Intensivstationen für Frauen im Vergleich zu Männern erhöht ist.

Da die Angaben bzgl. SIRS in der Literatur nicht eindeutig sind, sollten weitere Studien den Einfluss des Geschlechts auf SIRS, Infektionen und deren Ursachen untersuchen.

### Operationsindikation

Patienten nach Ösophagusresektion entwickelten signifikant häufiger SIRS als nach Pankreasresektion. Vergleiche [8, 62, 63] zwischen minimalinvasiver Chirurgie und offenchirurgischen Verfahren suggerieren, dass die Menge an pro-inflammatorischen Zytokinen mit der Größe der Operation korreliert. In dieser Arbeit wurde zwar nur das pro-inflammatorische Zytokin IL-6 untersucht, es erhöhte sich jedoch am ersten postoperativen Tag nach Ösophagusresektionen im Vergleich zu Pankreasresektionen nicht signifikant (Median: 126,0 vs. 71,9 pg/ml). Da eine Ösophagusresektion einen wesentlich größeren Eingriff als eine Pankreasresektion darstellt und eine Erhöhung der pro-inflammatorischen Zytokine eng mit der Entstehung eines SIRS verbunden ist [53], könnte so das Ergebnis erklärt werden.

### präoperativer Schmerz

Patienten mit präoperativ weniger Schmerzen entwickelten postoperativ signifikant häufiger SIRS als Patienten mit präoperativ häufiger Schmerzen. Schmerz als akuter physiologischer und psychologischer Stress aktiviert die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und das

sympathische Nervensystem, was zu einer Sekretion von Glukokortikoiden und Katecholaminen führt [64]. Es konnte gezeigt werden, dass diese Arten von Stress zu Veränderungen in der Immunkompetenz führen [65, 66]. Greenfeld et al. [13] fanden in ihrer Studie mit 81 nach der Invasivität des chirurgischen Eingriffes randomisierten Patienten heraus, dass es präoperativ in Erwartung der Operation zu einem signifikanten Abfall der NK-Aktivität sowie der pro-inflammatorischen Zytokine IFN- $\gamma$  und IL-12 kommt. Schmerz als zusätzlicher Stressor könnte diese Reaktion noch verstärken.

Das in dieser Arbeit untersuchte pro-inflammatorische Zytokin IL-6 zeigte prä- sowie postoperativ keine signifikanten Unterschiede. Da eine Erhöhung der pro-inflammatorischen Zytokine eng mit der Entwicklung von SIRS verbunden ist [53] und die Patienten mit präoperativ stärkeren Schmerzen möglicherweise eine stärkere Suppression dieser Zytokine aufweisen, könnte so das gefundene Ergebnis erklärt werden.

## **8.5 Basischarakteristika**

Eine Signifikanz ( $p = 0,045$ ) wurde zwischen der Verteilung von Männern und Frauen in den jeweiligen Randomisierungsgruppen ermittelt. Diese univariat errechnete Signifikanz wurde in dieser Arbeit zu keinem Zeitpunkt in den multivariaten Analysen bestätigt. Es ist demnach sehr unwahrscheinlich, dass diese ungleiche Verteilung die Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Alle anderen klinisch-demographischen Ausgangsparameter zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Es lässt sich schlussfolgern, dass die Ergebnisse dieser Arbeit von den Basischarakteristika nicht oder gleichermaßen beeinflusst wurden.

## **8.6 Limitationen**

Eine Limitation dieser Arbeit in Bezug auf Infektionen und SIRS ist die geringe Fallzahl. Es traten insgesamt nur 28 Infektionen bzw. 27 Fälle von SIRS in den drei Gruppen auf, was einer Power von 17 % bzw. 8 % entspricht und die Beurteilung der Wirksamkeit erschwert. Eine weitere wichtige Limitation ist der Beobachtungszeitraum von 5 Tagen für Infektparameter bzw. von 9 Tagen für Infektionen. Nach dieser Zeit aufgetretene Infektionen und der weitere Verlauf der Infektparameter sind nicht erfasst und können in Bezug auf die Wirkung der Studienmedikamente nicht beurteilt werden. Zudem wurde das Studienmedikament nur maximal an 3 Tagen verabreicht, eine Aussage über die immunstimulierende Wirkung über einen längeren oder kürzeren Zeitraum ist nicht möglich. Als Einschlusskriterium wurde eine HLA-DR-Konzentration von  $< 10.000$  Antigenen/Monozyt festgelegt. Allerdings wird nach aktuellem

Stand der Wissenschaft davon ausgegangen, dass nur die Änderung der HLA-DR-Konzentration, nicht aber die absolute Konzentration eine Aussage über den Immunstatus und über möglicherweise auftretende Sekundärinfektionen trifft [14, 67]. Das könnte dazu geführt haben, dass die eingeschlossenen Patienten eine sehr unterschiedliche Immunsuppression erfuhren, was wiederum die Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Weiterhin wurden Patienten sowohl nach Pankreas- als auch nach Ösophagusresektion eingeschlossen. Obwohl es zwischen diesen beiden Gruppen in unseren Untersuchungen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die HLA-DR-Expression am POD1 und der OP-Zeit gab, ist das chirurgische Trauma bei Ösophagusresektionen höher, was sich wiederum auf die postoperative Immunreaktivität und somit auf die Infektparameter ausgewirkt haben könnte.

## **8.7 Perspektiven**

Diese Arbeit untersuchte erstmalig den Einfluss von GM-CSF und Mutagrip nach postoperativer Stimulation auf die fünf am meisten genutzten Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6 und konnte zeigen, dass GM-CSF die Anzahl der Leukozyten im Blut erhöhte, während die anderen Parameter unbeeinflusst blieben. Da Leukozyten standardmäßig in Form eines kleinen Blutbildes bestimmt und klinisch als einer der wichtigsten Parameter zur Beurteilung von Infektionen herangezogen werden, ist es sehr wichtig, bei einer Leukozytose nach postoperativer GM-CSF-Gabe genau einzuschätzen, ob eine Infektion vorliegt oder nicht. Während Leukozyten über den gesamten Untersuchungszeitraum mit Infektionen korreliert waren, gab es keinen Zusammenhang über den Zeitraum der Gabe von GM-CSF. In einer weiteren randomisierten, kontrollierten klinischen Studie sollte deshalb der Einfluss einer Gabe von GM-CSF über einen längeren Zeitraum bei immunsupprimierten Patienten untersucht werden. Außerdem sollten weitere randomisierte, kontrollierte klinische Studien mit einer viel größeren Fallzahl durchgeführt werden, um das Ergebnis dieser Arbeit zu bestätigen und eventuell noch weitere, unerkannte Einflüsse dieses Medikaments auf Infektparameter herauszufinden.

## 9. Literaturverzeichnis

1. Geffers, C. and P. Gastmeier, *Nosocomial infections and multidrug-resistant organisms in Germany: epidemiological data from KISS (the Hospital Infection Surveillance System)*. Dtsch Arztebl Int, 2011. 108(6): p. 87-93.
2. Wolkewitz, M., R.P. Vonberg, H. Grundmann, et al., *Risk factors for the development of nosocomial pneumonia and mortality on intensive care units: application of competing risks models*. Crit Care, 2008. 12(2): p. R44.
3. Geffers, P.G.C., *Nosokomiale Infektionen in Deutschland: Wie viele gibt es wirklich?* Dtsch med Wochenschr 2008. 133: p. 1111-1115.
4. Geffers, C., D. Sohr and P. Gastmeier, *Mortality attributable to hospital-acquired infections among surgical patients*. Infect Control Hosp Epidemiol, 2008. 29(12): p. 1167-70.
5. Khuri, S.F., J. Daley, W. Henderson, et al., *Risk adjustment of the postoperative mortality rate for the comparative assessment of the quality of surgical care: results of the National Veterans Affairs Surgical Risk Study*. J Am Coll Surg, 1997. 185(4): p. 315-27.
6. Suan, C., C. Perez-Torres and A. Herrera, *[Postoperative mortality in a general hospital]*. Rev Esp Anesthesiol Reanim, 1997. 44(7): p. 267-72.
7. Mokart, D., M. Merlin, A. Sannini, et al., *Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery*. Br J Anaesth, 2005. 94(6): p. 767-73.
8. Veenhof, A.A., C. Sietses, B.M. von Blomberg, et al., *The surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopic or conventional total mesorectal excision in rectal cancer: a randomized trial*. Int J Colorectal Dis, 2011. 26(1): p. 53-9.
9. Koerner, P., A. Westerholt, W. Kessler, et al., *[Surgical trauma and postoperative immunosuppression]*. Chirurg, 2008. 79(4): p. 290-4.
10. Goldfarb, Y., L. Sorski, M. Benish, et al., *Improving postoperative immune status and resistance to cancer metastasis: a combined perioperative approach of immunostimulation and prevention of excessive surgical stress responses*. Ann Surg, 2011. 253(4): p. 798-810.
11. Kim, O.Y., A. Monsel, M. Bertrand, et al., *Differential down-regulation of HLA-DR on monocyte subpopulations during systemic inflammation*. Crit Care, 2010. 14(2): p. R61.
12. Bartal, I., R. Melamed, K. Greenfeld, et al., *Immune perturbations in patients along the perioperative period: alterations in cell surface markers and leukocyte subtypes before and after surgery*. Brain Behav Immun, 2010. 24(3): p. 376-86.
13. Greenfeld, K., R. Avraham, M. Benish, et al., *Immune suppression while awaiting surgery and following it: dissociations between plasma cytokine levels, their induced production, and NK cell cytotoxicity*. Brain Behav Immun, 2007. 21(4): p. 503-13.
14. Wu, J.F., J. Ma, J. Chen, et al., *Changes of monocyte human leukocyte antigen-DR expression as a reliable predictor of mortality in severe sepsis*. Crit Care, 2011. 15(5): p. R220.
15. Mokart, D., J. Textoris, L. Chow-Chine, et al., *HLA-DR and B7-2 (CD86) monocyte expressions after major cancer surgery: profile in sepsis*. Minerva Anesthesiol, 2011. 77(5): p. 522-7.
16. Albaiceta, G.M., P.R. Pedreira, E. Garcia-Prieto, et al., *Therapeutic implications of immunoparalysis in critically ill patients*. Inflamm Allergy Drug Targets, 2007. 6(4): p. 191-6.

17. Lukaszewicz, A.C., V. Faivre, F. Villa, et al., *Anti-inflammatory profile of circulating immune cells after surgery for seizure*. *Minerva Anesthesiol*, 2010. 76(7): p. 477-84.
18. Haining, W.N., J.W. Evans, N.P. Seth, et al., *Measuring T cell immunity to influenza vaccination in children after haemopoietic stem cell transplantation*. *Br J Haematol*, 2004. 127(3): p. 322-5.
19. Perry, S.E., S.M. Mostafa, R. Wenstone, et al., *HLA-DR regulation and the influence of GM-CSF on transcription, surface expression and shedding*. *Int J Med Sci*, 2004. 1(3): p. 126-136.
20. Nambiar, J.K., A.A. Ryan, C.U. Kong, et al., *Modulation of pulmonary DC function by vaccine-encoded GM-CSF enhances protective immunity against Mycobacterium tuberculosis infection*. *Eur J Immunol*, 2010. 40(1): p. 153-61.
21. Flohe, S., S. Lendemans, C. Selbach, et al., *Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on the immune response of circulating monocytes after severe trauma*. *Crit Care Med*, 2003. 31(10): p. 2462-9.
22. Meisel, C., J.C. Schefold, R. Pschowski, et al., *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to reverse sepsis-associated immunosuppression: a double-blind, randomized, placebo-controlled multicenter trial*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009. 180(7): p. 640-8.
23. Borgermann, J., I. Friedrich, R. Scheubel, et al., *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) restores decreased monocyte HLA-DR expression after cardiopulmonary bypass*. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2007. 55(1): p. 24-31.
24. Nierhaus, A., B. Montag, N. Timmler, et al., *Reversal of immunoparalysis by recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with severe sepsis*. *Intensive Care Med*, 2003. 29(4): p. 646-51.
25. Bilgin, K., A. Yaramis, K. Haspolat, et al., *A randomized trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in neonates with sepsis and neutropenia*. *Pediatrics*, 2001. 107(1): p. 36-41.
26. Presneill, J.J., T. Harris, A.G. Stewart, et al., *A randomized phase II trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor therapy in severe sepsis with respiratory dysfunction*. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002. 166(2): p. 138-43.
27. Meropol, N.J., D.E. Wood, J. Nemunaitis, et al., *Randomized, placebo-controlled, multicenter trial of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as infection prophylaxis in oncologic surgery*. *Leukine Surgical Prophylaxis Research Group*. *J Clin Oncol*, 1998. 16(3): p. 1167-73.
28. Castellino, F., G. Galli, G. Del Giudice, et al., *Generating memory with vaccination*. *Eur J Immunol*, 2009. 39(8): p. 2100-5.
29. Spies, C.D., M. Kip, A. Lau, et al., *Influence of vaccination and surgery on HLA-DR expression in patients with upper aerodigestive tract cancer*. *J Int Med Res*, 2008. 36(2): p. 296-307.
30. Launey, Y., N. Nessler, Y. Malledant, et al., *Clinical review: fever in septic ICU patients--friend or foe?* *Crit Care*, 2011. 15(3): p. 222.
31. Mohr, N.M., R.S. Hotchkiss, S.T. Micek, et al., *Change in temperature profile may precede fever and be an early indicator of sepsis: a case report*. *Shock*, 2011. 36(3): p. 318-20; discussion 320-1.
32. Peres Bota, D., F. Lopes Ferreira, C. Melot, et al., *Body temperature alterations in the critically ill*. *Intensive Care Med*, 2004. 30(5): p. 811-6.
33. Seigel, T.A., M.N. Cocchi, J. Saliccioli, et al., *Inadequacy of Temperature and White Blood Cell Count in Predicting Bacteremia in Patients with Suspected Infection*. *J Emerg Med*, 2010.

34. Bottner, F., A. Wegner, W. Winkelmann, et al., *Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha: markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement*. J Bone Joint Surg Br, 2007. 89(1): p. 94-9.
35. Berbari, E., T. Mabry, G. Tsaras, et al., *Inflammatory blood laboratory levels as markers of prosthetic joint infection: a systematic review and meta-analysis*. J Bone Joint Surg Am, 2010. 92(11): p. 2102-9.
36. Aminzadeh, Z. and E. Parsa, *Relationship between Age and Peripheral White Blood Cell Count in Patients with Sepsis*. Int J Prev Med, 2011. 2(4): p. 238-42.
37. Mardi, D., B. Fwity, R. Lobmann, et al., *Mean cell volume of neutrophils and monocytes compared with C-reactive protein, interleukin-6 and white blood cell count for prediction of sepsis and nonsystemic bacterial infections*. Int J Lab Hematol, 2010. 32(4): p. 410-8.
38. Hsiao, A.L. and M.D. Baker, *Fever in the new millennium: a review of recent studies of markers of serious bacterial infection in febrile children*. Curr Opin Pediatr, 2005. 17(1): p. 56-61.
39. Radulova, P., [Neonatal infections. Diagnostic markers of infection]. Akush Ginekol (Sofia), 2010. 49(5): p. 42-51.
40. Martinez-Albarran, M., J. Perez-Molina Jde, S. Gallegos-Castorena, et al., *Procalcitonin and C-reactive protein serum levels as markers of infection in a pediatric population with febrile neutropenia and cancer*. Pediatr Hematol Oncol, 2009. 26(6): p. 414-25.
41. McMaster, P., D.Y. Park, F. Shann, et al., *Procalcitonin versus C-reactive protein and immature-to-total neutrophil ratio as markers of infection after cardiopulmonary bypass in children*. Pediatr Crit Care Med, 2009. 10(2): p. 217-21.
42. Khassawneh, M., W.A. Hayajneh, H. Kofahi, et al., *Diagnostic markers for neonatal sepsis: comparing C-reactive protein, interleukin-6 and immunoglobulin M*. Scand J Immunol, 2007. 65(2): p. 171-5.
43. Lindberg, M., A. Hole, H. Johnsen, et al., *Reference intervals for procalcitonin and C-reactive protein after major abdominal surgery*. Scand J Clin Lab Invest, 2002. 62(3): p. 189-94.
44. Levy, M.M., M.P. Fink, J.C. Marshall, et al., *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Crit Care Med, 2003. 31(4): p. 1250-6.
45. Robert-Koch-Institut, *Definitionen nosokomialer Infektionen (CDC – Definitionen)*. 2008. 6: p. 8-18.
46. *Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia*. Am J Respir Crit Care Med, 2005. 171(4): p. 388-416.
47. Brunner, E., Domhof, S. and F. Langer, *Nonparametric Analysis of Longitudinal Data in Factorial Experiments*. Wiley & Sons, 2002.
48. Bathke, A.a.B., E., *A Nonparametric Alternative to Analysis of Covariance*. Recent Advances and Trends in Nonparametric Statistics, 2003: p. 109-120.
49. Tsai, M.Y., N.Q. Hanson, R.J. Straka, et al., *Effect of influenza vaccine on markers of inflammation and lipid profile*. J Lab Clin Med, 2005. 145(6): p. 323-7.
50. Posthouwer, D., H.A. Voorbij, D.E. Grobbee, et al., *Influenza and pneumococcal vaccination as a model to assess C-reactive protein response to mild inflammation*. Vaccine, 2004. 23(3): p. 362-5.
51. Rosenbloom, A.J., P.K. Linden, A. Dorrance, et al., *Effect of granulocyte-monocyte colony-stimulating factor therapy on leukocyte function and clearance of serious infection in nonneutropenic patients*. Chest, 2005. 127(6): p. 2139-50.

52. Bo, L., F. Wang, J. Zhu, et al., *Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) and granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) for sepsis: a meta-analysis*. Crit Care, 2011. 15(1): p. R58.
53. Rodriguez-Gaspar, M., F. Santolaria, A. Jarque-Lopez, et al., *Prognostic value of cytokines in SIRS general medical patients*. Cytokine, 2001. 15(4): p. 232-6.
54. Almirall, J., C.A. Gonzalez, X. Balanzo, et al., *Proportion of community-acquired pneumonia cases attributable to tobacco smoking*. Chest, 1999. 116(2): p. 375-9.
55. Nuorti, J.P., J.C. Butler, M.M. Farley, et al., *Cigarette smoking and invasive pneumococcal disease*. Active Bacterial Core Surveillance Team. N Engl J Med, 2000. 342(10): p. 681-9.
56. Sorensen, L.T., T. Karlsmark and F. Gottrup, *Abstinence from smoking reduces incisional wound infection: a randomized controlled trial*. Ann Surg, 2003. 238(1): p. 1-5.
57. McCusker, K., *Mechanisms of respiratory tissue injury from cigarette smoking*. Am J Med, 1992. 93(1A): p. 18S-21S.
58. Moller, A.M., N. Villebro, T. Pedersen, et al., *Effect of preoperative smoking intervention on postoperative complications: a randomised clinical trial*. Lancet, 2002. 359(9301): p. 114-7.
59. Ono, S., H. Tsujimoto, S. Hiraki, et al., *Sex differences in cytokine production and surface antigen expression of peripheral blood mononuclear cells after surgery*. Am J Surg, 2005. 190(3): p. 439-44.
60. Nachtigall, I., S. Tafelski, A. Rothbart, et al., *Gender-related outcome difference is related to course of sepsis on mixed ICUs: a prospective, observational clinical study*. Crit Care, 2011. 15(3): p. R151.
61. Combes, A., C.E. Luyt, J.L. Trouillet, et al., *Gender impact on the outcomes of critically ill patients with nosocomial infections*. Crit Care Med, 2009. 37(9): p. 2506-11.
62. Whitson, B.A., J. D'Cunha, R.S. Andrade, et al., *Thoracoscopic versus thoracotomy approaches to lobectomy: differential impairment of cellular immunity*. Ann Thorac Surg, 2008. 86(6): p. 1735-44.
63. Ordemann, J., C.A. Jacobi, W. Schwenk, et al., *Cellular and humoral inflammatory response after laparoscopic and conventional colorectal resections*. Surg Endosc, 2001. 15(6): p. 600-8.
64. Elenkov, I.J., R.L. Wilder, G.P. Chrousos, et al., *The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system*. Pharmacol Rev, 2000. 52(4): p. 595-638.
65. Ader, R., *On the development of psychoneuroimmunology*. Eur J Pharmacol, 2000. 405(1-3): p. 167-76.
66. Bauer, M.E., P. Perks, S.L. Lightman, et al., *Are adhesion molecules involved in stress-induced changes in lymphocyte distribution?* Life Sci, 2001. 69(10): p. 1167-79.
67. Lukaszewicz, A.C., V. Faivre and D. Payen, *Is monocyte HLA-DR expression monitoring a useful tool to predict the risk of secondary infection?* Minerva Anestesiol, 2010. 76(9): p. 737-43.

## 10. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Gunnar Lachmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Einfluss einer postoperativen Stimulation durch GM-CSF oder Mutagrip auf die Infektparameter Temperatur, Leukozyten, CRP, PCT und IL-6“ 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](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultate (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

## Anteilerklärung an erfolgten Publikationen

Gunnar Lachmann hatte Anteil an den folgenden Publikationen:

**Publikation 1:** Gunnar Lachmann, Johannes Kurth, Klaus-Dieter Wernecke, Claudia Spies; „Relevance of postoperative HLA-DR stimulation on infection parameters“; Poster beim ‚HAI 2012 - Hauptstadtkongress der DGAI für Anästhesie und Intensivtherapie‘; 2012

*Beitrag im Einzelnen:* Mitarbeit bei der Datenerhebung und Erstellung der Datenbank, Auswertung der Daten in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Wernecke, Verfassen des Posters, Posterpräsentation; dargestellt sind hauptsächlich Ergebnisse, die in dieser Arbeit enthalten sind

**Publikation 2:** Gunnar Lachmann, Johannes Kurth, Klaus-Dieter Wernecke, Claudia Spies; „Relevance of postoperative HLA-DR stimulation on infection parameters“; Poster bei der ‚European Students‘ Conference 2012‘ (Posterpreis); 2012

*Beitrag im Einzelnen:* Mitarbeit bei der Datenerhebung und Erstellung der Datenbank, Auswertung der Daten in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Wernecke, Verfassen des Posters, Posterpräsentation, Vortrag als ‚Session Winner Anaesthesiology/Emergency Medicine‘ (Posterpreis); dargestellt sind hauptsächlich Ergebnisse, die in dieser Arbeit enthalten sind

**Publikation 3:** Claudia Spies, Alawi Lütz, Markus Renius, Gunnar Lachmann, Clarissa von Haefen, Klaus-Dieter Wernecke, Marcus Bahra, Alexander Schiemann, Marco Paupers und Christian Meisel; „Sargramostim but not vaccination improves HLA-DR response in immune suppressed patients after esophageal or pancreatic resection“; eingereicht beim ‚American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine‘ im Januar 2013

*Beitrag im Einzelnen:* Mitarbeit bei der Datenerhebung und Erstellung der Datenbank, Auswertung der Daten in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Wernecke und Frau Prof. Spies, Miterstellung des Papers in Zusammenarbeit mit Frau Prof. Spies; dargestellt sind u.a. Ergebnisse, die in dieser Arbeit enthalten sind

Unterschrift des Doktoranden

## **11. Lebenslauf**

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

## 12. Danksagung

Mein allerherzlichster Dank gilt an erster Stelle meiner Doktormutter, Frau Univ. Prof. Dr. med. Claudia Spies. Ihr danke ich ganz besonders für die Überlassung des Themas, dafür, dass sie bei Fragen und Problemen jederzeit ein offenes Ohr hatte und die Antwort schon wusste. Besonders ihre herzliche und motivierende Art, die kontinuierliche Betreuung und unermüdliche Unterstützung waren eine sehr große Hilfe.

Ganz besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Klaus-Dieter Wernecke für die Hilfestellung in der statistischen Planung und Auswertung. Er war jederzeit ansprechbar und wusste immer eine Lösung.

Für seine Kooperation mit unserer Studie danke ich Herrn Prof. Dr. med. Peter Neuhaus, Direktor der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum.

Ich möchte den Studienärzten Alexander Schiemann und Marco Paupers sowie meinen Doktorandenkollegen Anja-Vanessa Philippeit, Julia Schäfer und Dominik Stöber für die gute, stets höfliche und zielstrebige Zusammenarbeit auch in schwierigen Situationen danken.

Ebenso danke ich Herrn Dr. med. Christian Meisel aus dem Institut für Medizinische Immunologie (Direktor: Prof. Dr. H.-D. Volk) für die fundierte Unterstützung bei der Lösung immunologischer Probleme.

Dr. med. Matthias Tischer, Dr. med. Tim Neumann und Johannes Kurth möchte ich für ihre freundschaftliche und motivierende Unterstützung sowie die regen Diskussionen und Hinweise danken.

Bei Carolyn Geipel, Fatima Yürek und Kay Dittrich möchte ich mich für die Unterstützung bei der Einarbeitung in die ART-VI-Studie bedanken.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen Ärzten, Schwestern und Pflegern der Intensivstationen, Normalstationen und der OP-Bereiche der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum.

Ein ganz besonderer Dank gilt allen Patienten, die trotz der Belastung ihrer Erkrankung durch ihre Einsatzbereitschaft und Kooperation die Untersuchungen ermöglicht haben.

Besonders möchte ich an dieser Stelle meiner Familie danken, vor allem meinen Großeltern Erika und Walter Bleil, die mich in all den Jahren mit viel Unterstützung und Liebe durch mein Studium begleitet haben.