

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

DISSERTATION

Einfluss einer präoperativen Impfung auf die monozytäre HLA-DR-Expression
bei Patienten mit einem Tumor des oberen Aerodigestivtraktes

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Christin Zachmann
aus Berlin

Datum der Promotion: 22. Juni 2014

Zusammenfassung

Große chirurgische Eingriffe sind mit einem erhöhten Risiko der postoperativen Immunsuppression und damit einhergehenden Infektionen assoziiert. Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einfluss einer präoperativen Impfung auf die monozytäre HLA-DR-Expression und die postoperative Infektionsrate bei Patienten mit einem malignen Tumor des oberen Aerodigestivtraktes, die sich einer Neck-Dissection oder einer Ösophagusresektion unterzogen, zu untersuchen.

In dieser randomisierten, kontrollierten Doppelblindstudie wurden 66 Patienten mit einem malignen Tumor des oberen Aerodigestivtraktes einer Vakzinierungsgruppe (VG) oder einer Nicht-Vakzinierungsgruppe (NVG) zugeordnet. VG und NVG wurden weiterhin nach der Art des Eingriffs (Neck-Dissection oder Ösophagusresektion) stratifiziert. Die Patienten wurden jeweils zweimal geimpft (Grippeimpfstoff MutagripTM oder Placebo): Die erste Impfung erfolgte unmittelbar nach der ersten Blutentnahme (Baseline) am Tag vor der geplanten Operation, die zweite am Operationstag. Blutentnahmen erfolgten vor der ersten Impfung (Baseline), am Operationstag unmittelbar vor der zweiten Impfung, sowie am ersten und dritten postoperativen Tag. Als primärer Beobachtungsendpunkt wurde die monozytäre HLA-DR-Expression gewählt. Sekundäre Endpunkte waren die postoperative Infektionsrate, die Leukozytenzahl und die Serumspiegel der Infektionsparameter C-reaktives Protein (CRP) und Procalcitonin (PCT), sowie klinische Kennzahlen. Die Messung der monozytären HLA-DR-Expression erfolgte durchflusszytometrisch.

In beiden Studiengruppen nahm die monozytäre HLA-DR-Expression im Vergleich zur Baseline am ersten und dritten postoperativen Tag ab. Dabei konnte kein Unterschied zwischen Impf- und Placebogruppe beobachtet werden. Die kumulative Inzidenz der postoperativen Infektionen unterschied sich nicht signifikant bis zum 10. postoperativen Tag zwischen beiden Gruppen, war jedoch in der VG bis zum 5. postoperativen Tag tendenziell niedriger. Zwischen dem 6. und 10. postoperativen Tag allerdings zeigte sich eine signifikant höhere Inzidenz in der VG verglichen mit der NVG. Der Verlauf der Standardinfektionsparameter zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Interventions- und Kontrollgruppe unterscheiden sich nicht unter Berücksichtigung der Art des Eingriffs hinsichtlich Verweildauer auf der Intensivstation und Beatmungsdauer.

Es konnte nicht gezeigt werden, dass eine präoperative Impfung die monozytäre HLA-DR-Expression steigert. In den ersten 5 Tagen nach Impfung scheint ein schützender Effekt zu resultieren, nach dem 5. Tag allerdings kommt es zu einer gesteigerten Inzidenz von postoperativen Infektionen bei den geimpften Patienten.

Abstract

Major surgery is associated with an increased risk of postoperative immunosuppression and infections. The aim of the present study was to investigate the effects of a preoperative vaccination in cancer patients undergoing surgery of the upper aero-digestive tract (neck dissection or esophagus resection) on immune response and postoperative infection rate.

In this randomized-controlled double-blinded trial 66 patients with an upper aerodigestive tract tumor were assigned either to a vaccination group (VG) or a non-vaccination group (NVG). Randomization was stratified by the kind of surgery i.e. neck dissection or esophageal resection. Patients were vaccinated twice: The first vaccination was performed immediately after baseline blood sampling on the day before surgery, the second vaccination was performed on the day of surgery. Blood samples were taken before surgery and first vaccination, on the day of surgery right before the second vaccination and on the first and third postoperative day (POD). Monocytic HLA-DR expression, measured by flow cytometry, was the primary endpoint. Postoperative infection rates, serum markers of infection (leukocyte count, C-reactive protein [CRP] and Procalcitonin [PCT]) and clinical outcome parameters served as secondary endpoints.

In both groups monocytic HLA-DR Expression decreased from baseline on POD 1 and POD 3 but there was no difference between vaccinated and non-vaccinated patients. Cumulative incidence of postoperative infections was not significantly different between groups until POD 10, but was in tendency decreased until POD 5 in VG whereas it was significantly increased after POD 5 in vaccinated patients compared to non-vaccinated patients. There was no significant difference in serum levels of markers of infection between VG and NVG. Study groups did not differ significantly regarding ICU length of stay and time on ventilator.

Preoperative vaccination did not enhance monocytic HLA-DR expression, but resulted in a protected time in the first 5 days after vaccination but in an increased incidence of postoperative infections after POD 5.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1. Karzinome des oberen Aerodigestivtraktes	6
1.2. Neck-Dissection	7
1.3. Ösophaguskarzinom	7
1.4. Ösophagusresektion	8
1.5. Patientenbesonderheiten	8
1.6. Immunsuppression durch Alkohol	9
1.7. Immunsuppression durch chirurgisches Trauma	9
1.8. HLA-DR-Expression auf Monozyten	10
1.9. Immunmodulation durch Impfung	11
2. Hypothesen	13
3. Material und Methoden	14
3.1. Patienten	14
3.2. Gruppenzuordnung	15
3.3. Studienprotokoll und Messungen	15
3.4. Vakzinierung	16
3.5. HLA-DR-Expression auf Monozyten	16
3.6. Procalcitonin-Messung	17
3.7. Postoperativer Verlauf	17
3.8. Sicherheitsanalyse	18
3.9. Statistik	18
4. Ergebnisse	20
4.1. Patienteneinschluss	20
4.2. Patientencharakteristika bei Studienbeginn	20
4.3. Monozytäre HLA-DR-Expression	23
4.4. Postoperative Infektionen	25
4.5. Infektionsparameter	27
4.6. Klinische Kennzahlen	28
4.7. Sicherheitsanalyse	30
4.7.1. Grundlagen der Sicherheitsanalyse	30
4.7.2. Unerwünschte Ereignisse	31
4.7.3. Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse	31
4.7.4. Nachbeobachtung	32

Inhaltsverzeichnis

5. Diskussion	33
A. Literaturverzeichnis	40
B. Abbildungsverzeichnis	48
C. Tabellenverzeichnis	49
D. Abkürzungsverzeichnis	50
E. Dokumente	52
E.1. Genehmigung der Ethikkommission	52
E.2. Patienteninformation	54
E.3. Einwilligung zur Teilnahme	60
F. Lebenslauf	63
G. Publikationsverzeichnis	64
H. Danksagung	65
I. Eidesstattliche Versicherung	66

1. Einleitung

1.1. Karzinome des oberen Aerodigestivtraktes

Zu den malignen Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes werden Karzinome der Mundhöhle, des Naso-, Oro- und Hypopharynx, des Larynx und der Trachea gezählt. Rund 2270 Männer und 670 Frauen erkranken pro Jahr im Gebiet des Gemeinsamen Krebsregisters (GKR) der Länder Berlin, Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern, Sachsen-Anhalt und der Freistaaten Sachsen und Thüringen an einem malignen Tumor dieser Gruppe [1]. Dies entspricht einer Inzidenzrate von 21,8 je 100.000 männlichen Einwohnern bei Männern und von 5,4 je 100.000 weiblichen Einwohnern bei Frauen. Damit handelt es sich um die sechsthäufigste Krebserkrankungen beim männlichen Geschlecht. Bei Frauen spielt diese Form von Krebserkrankung eine weniger vordringliche Rolle. Die höchsten Inzidenzraten werden im Unterschied zu den meisten anderen Krebsarten in den mittleren Altersgruppen beobachtet. Im Alter von 45 bis unter 60 Jahren tritt bei Männern rund die Hälfte und bei Frauen ein Drittel der Fälle auf. Die Inzidenz steigt seit Beginn der Registrierung. In den letzten 20 Jahren erhöhte sich die Rate der Männer um 80%, während sich die der Frauen verdoppelte. Seit 1985 steigen die Inzidenzraten der Männer jährlich um 3,1% und die der Frauen seit 1989 jährlich um 3,9%. Die relativen 5-Jahre-Überlebensraten sind bei Frauen mit 62% deutlich höher als bei Männern (43%) [1].

In der Mehrzahl der Fälle (über 90%) handelt es sich bei den Tumoren im Kopf-Hals-Bereich um Plattenepithelkarzinome [2]. Als die größten Risikofaktoren für die Entwicklung eines solchen Karzinoms gelten langjähriger Nikotin- und Alkoholkonsum. Die Tatsache, dass das Humane Papilloma-Virus (HPV), vor allem HPV 16, eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von Oropharynxkarzinomen spielt, gilt als eine der wichtigsten Entdeckungen der letzten Jahre im Bereich der Onkologie von Kopf-Hals-Tumoren [3, 4, 5]. Als weitere Risikofaktoren gelten schlechte Mundhygiene, Asbestexposition sowie Luftverschmutzung [6].

Als Therapieoptionen stehen die chirurgische und die strahlentherapeutische Behandlung bei Tumoren im Kopf-Hals-Bereich im Vordergrund. Die neoadjuvante Chemotherapie kommt bei kurativem Ansatz nur in Kombination mit einer Bestrahlung zum Einsatz.

Der Tumor wird, wann immer möglich, chirurgisch im Ganzen unter Einhaltung eines Sicherheitsabstandes reseziert. Unter Umständen ist eine zusätzliche Ausräumung der Halslymphknoten (Neck-Dissection) nötig.

1.2. Neck-Dissection

Eine Metastasierung in die Halslymphknoten gilt als wichtigster prognostischer Faktor bei Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich [7, 8]. Je nach Tumorstadium erfolgt daher zusätzlich die Ausräumung der Halslymphknoten (Neck-Dissection).

Als typische Komplikationen einer zervikalen Lymphadenektomie gelten Verletzungen des Nervus accessorius, Nervus vagus, Grenzstrang mit daraus resultierendem Horner-Syndrom, Nervus hypoglossus und Plexus cervicalis [9]. Auch Verletzungen des Ductus thoracicus oder, bei hoch zervikaler Lokalisation, der Glandula parotis oder submandibularis sind beschrieben [10]. Hinzu kommen allgemeine Komplikationen wie peri- oder postoperativ auftretende Blutung, Schwellung oder Entzündung.

Insgesamt sind Komplikationen bei einem Eingriff dieser Art mit einem Risiko zwischen 1 bis 2% eher selten, und nur in der Ausnahme lebensbedrohlich [9].

1.3. Ösophaguskarzinom

Im GKR-Gebiet erkranken pro Jahr rund 230 Frauen und 1015 Männer an einem Ösophaguskarzinom. Die Inzidenz hat sich bei beiden Geschlechtern seit Mitte der 1980er Jahre verdoppelt (bei Frauen 1,5 je 100.000 weibliche Einwohner, bei Männern 9,1 je 100.000 männliche Einwohner). Männer sind demnach häufiger betroffen und erkranken im Mittel 4 Jahre früher als Frauen (65 versus 69 Jahre). Aktuell wächst jedoch die Inzidenz bei den Frauen mit +2,5% jährlich deutlich stärker als die bei Männern (+0,7%). Trotzdem die relativen 5-Jahre-Überlebensraten gegenüber Anfang der 1980er Jahre auf das 8- bzw. 9-fache gestiegen sind, gehört das Ösophaguskarzinom mit 5-Jahre-Überlebensraten von 16% (Männer) bzw. 18% (Frauen) noch immer zu den Tumorentitäten mit schlechter Prognose [1].

Rauchen und Trinken – insbesondere von hochprozentigem Alkohol – gelten als die wichtigsten Risikofaktoren für das Plattenepithelkarzinom des Ösophagus [11]. Eine Erhöhung des Erkrankungsrisikos haben auch die Belastung mit Nitrosaminen (z.B. in gepökelter Nahrung) oder Narbenstenosen nach Laugenverätzungen zur Folge. Für das Adenokarzinom steht das Vorliegen einer gastro-ösophagealen Refluxkrankheit als Risikofaktor im Vordergrund. Die metaplastische Umwandlung des Speiseröhrenepithels als Komplikation der Refluxkrankheit wird als Barrettösophagus bezeichnet und gilt als prädisponierende Erkrankung für ein Adenokarzinom des Ösophagus [2].

1.4. Ösophagusresektion

Die Ösophagusresektion mit entweder hoch-intrathorakaler oder zervikaler Anastomosierung gilt als komplikationsbehaftete Operation. Als Zweihöhleneingriff ist sie sowohl zeitlich aufwändig, als auch technisch anspruchsvoll und geht nach wie vor mit einer relevanten Komplikationsrate einher [12].

Die beobachteten postoperativen Komplikationen liegen in ihrem Ausmaß deutlich über denjenigen bei anderen großen viszeralchirurgischen Eingriffen, wie z.B. bei Magen- und Darmresektionen, hepato-biliären Eingriffen oder partiellen Pankreasresektionen [12]. Für dieses Patientenkollektiv wurde von Bartels eine durchschnittliche postoperative Komplikationsrate von 9,7%, also knapp unter 10% ermittelt [13]. Für die subtotale Ösophagektomie liegen hingegen Daten vor, die Komplikationsraten von 30 bis 40% belegen [14, 15, 16].

Es kann zwischen chirurgischen (z.B. Anastomoseninsuffizienz, Rezidivparese, Interponatverlust oder -insuffizienz, Trachealäsionen oder Chylusfistel) und allgemeinen (z.B. Wundheilungsstörungen, Nachblutungen und Infektionen wie Abszesse oder Pneumonien im postoperativen Verlauf) Komplikationen unterschieden werden.

1.5. Patientenbesonderheiten

Bei den malignen Tumoren des Kopf-Hals-Bereiches handelt es sich fast ausschließlich um Plattenepithelkarzinome [2]. Sie sind oftmals assoziiert mit einem langfristigen Alkoholabusus der Erkrankten [17, 18]. Darüber hinaus gilt andauernder Alkoholmissbrauch als etablierter Risikofaktor für die Entstehung von Leber- und Brustkrebs sowie von kolorektalen Karzinomen [19, 20, 21, 22].

Es ist bekannt, dass bei Patienten mit Alkoholkrankheit (*Alcohol Use Disorder* [AUD]) chirurgische Eingriffe im Vergleich zu nicht alkoholkranken Patienten (non-AUD) zu einer erhöhten postoperativen Komplikationsrate führen [23, 24, 18, 25]. Diese Komplikationen umfassen im Speziellen nosokomiale Infektionen wie Pneumonien, chirurgische Wundinfektionen und das vermehrte Auftreten von Sepsiserkrankungen. Das führt zu einem verlängertem intensivmedizinischem Aufenthalt der Patienten und zu einem Anstieg der Gesamt Krankenhausverweildauer. Grund für diese Effekte ist die sich durch Alkoholkrankheit und chirurgisches Trauma im Sinne einer Suppression verändernde Immunantwort. Eine erhöhte Rate an Infektionen ist die Folge [24].

1.6. Immunsuppression durch Alkohol

Der regelmäßige Konsum von Alkohol hat bereits nach einer Woche erheblichen Einfluss auf Veränderungen in der angeborenen und erworbenen Immunität [26]. Die Folge sind unspezifische Entzündungsreaktionen, die wiederum bei der Entstehung vieler Organschäden von entscheidender Relevanz sind. Hinzu kommt ein erhöhtes Risiko für Infektionen nach mehrjähriger Alkoholkrankheit [27].

Bei Patienten mit Alkoholkrankheit ist die T-Helfer-Zell (Th)-1/Th2-Ratio, verglichen mit Patienten ohne Alkoholkrankheit reduziert. Die Th1/Th2-Ratio gilt als guter Prädiktor für das Auftreten postoperativer Komplikationen [28]. Es scheint, als seien alkoholranke Patienten aufgrund ihrer präoperativ reduzierten Th1/Th2-Ratio nicht in der Lage, die Ausbildung zytotoxischer T-Zellen für eine effektive Immunantwort zu steigern.

Nicht nur die zellvermittelte, sondern auch die zytokinvermittelte Immunantwort wird durch den langjährigen Konsum von Alkohol beeinflusst. Es wurde beobachtet, dass proinflammatorische Zytokine wie Tumor Nekrosefaktor (TNF)-alpha und Interleukin (IL)-12 bei Patienten mit Alkoholkrankheit herunterreguliert werden. Gleiches gilt für antiinflammatorische Zytokine wie IL-10 [29, 30, 31, 32, 33]. Die Reduktion der postoperativen Interferon (IFN)-gamma/IL-10-Ratio scheint einen prädiktiven Wert für die postoperative Infektionsrate zu haben [31]. Darüberhinaus konnte gezeigt werden, dass eine verringerte IL-6/IL-10-Ratio mit einer erhöhten Rate an postoperativen Komplikationen assoziiert ist [29].

1.7. Immunsuppression durch chirurgisches Trauma

Es ist bekannt, dass ein chirurgisches Trauma die systemische Immunantwort des Menschen verändert und mit einer Suppression des Immunsystems sowie einer erhöhten Rate an Infektionen einhergeht.

Die chirurgische Verletzung von menschlichem Gewebe führt zu einer Verminderung der T-Zell vermittelten Immunantwort [29, 31, 27]. Gleichzeitig verschiebt sich die Th1/Th2-Ratio in Richtung der Th2-Antwort [34], während die *Cluster of Differentiation* (CD) 4/CD8-Ratio unbeeinflusst bleibt [35]. Die zellvermittelte Immunantwort, insbesondere die Expression von *Major Histocompatibility Complex* (MHC)-II Molekülen auf antigenpräsentierenden Zellen wird durch ein chirurgisches Trauma negativ beeinflusst. In der Folge wird die Präsentation und Prozessierung von Antigenen unterdrückt [36, 30]. Die Hemmung der Migrations- und Phagozytosefähigkeit von Makrophagen, Monozyten und Neutrophilen ist ein weiterer durch den chirurgischen Eingriff ausgelöster Effekt [37, 38]. Es konnte gezeigt werden, dass diese

Veränderungen der Immunantwort für infektiöse und septische Komplikationen bei chirurgischen Patienten verantwortlich sind [39].

Die Kombination von chirurgischem Trauma und langjährigem Alkoholabusus führt zu einer Aggravierung der Immunsuppression [40, 27, 41, 23]. Bislang gibt es nur wenige klinische Studien, die sich mit den Veränderungen des Immunsystems durch Alkohol in Kombination mit chirurgischem Stress auseinandersetzen. Sander et al. konnten zeigen, dass bei alkoholkranken Patienten nach chirurgischer Intervention eine gegenüber nicht-alkoholkranken Patienten verminderte IL-6/IL-10-Ratio auftritt. In der Folge kam es zu vermehrten infektiösen Komplikation während der intensivmedizinischen Behandlung [29]. Weiterhin ist bekannt, dass alkoholranke Patienten eine verminderte Th1/Th2-Ratio – sowohl prä- als auch perioperativ – zeigen. Das wiederum führt zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Infektionen [24].

1.8. HLA-DR-Expression auf Monozyten

Die Reaktivität der zirkulierenden Monozyten wird durch eine Operation reduziert [42, 43]. Diese monozytäre Funktionseinschränkung oder auch Deaktivierung ist gekennzeichnet durch eingeschränkte monozytäre Phagozytose und Antigenverarbeitung, unzureichende Antigenpräsentation und verminderte monozytäre Zytokinsekretion. Die verminderte Kapazität Antigene zu präsentieren schwächt die zellvermittelte Immunantwort. Für diesen Zustand wurde der Begriff Immunparalyse geprägt, welcher ein funktionelles Versagen der monozytären Immunabwehr beschreibt [44]. Es konnte gezeigt werden, dass diese Effekte für Infektionen und septische Komplikationen bei chirurgischen Patienten verantwortlich sind [39].

Der immunologische Zustand der Immunparalyse kann durch die Messung der Expression von MHC Klasse II-Molekülen (*Human Leukocyte Antigen* [HLA]-DR) auf CD14-positiven (+) Monozyten erfasst werden. MHC Klasse II-Moleküle sind Glykoproteine auf der Zelloberfläche antigenpräsentierender Zellen. Die MHC Klasse II-vermittelte Antigenpräsentation ist von entscheidender Bedeutung für die Einleitung, Aufrechterhaltung und Regulierung einer adaptiven Immunantwort [45]. Ein großer Fortschritt der letzten Jahre besteht darin, dass die monozytäre HLA-DR-Expression mittels eines standardisierten, quantitativen Tests gemessen werden kann [46]. Die standardisierte Messung von HLA-DR erlaubt eine Aussage zur Prognose septischer Patienten [47]. Eine persistierende reduzierte HLA-DR-Expression auf CD14+ Monozyten korreliert mit gehäuftem Auftreten von sekundären Infektionen und Letalität [48, 49, 47]. Der Verlust zellvermittelter Immunität scheint für einen erheblichen Teil der Sepsismortalität verantwortlich zu sein [50]. Heute ist bekannt, dass die meisten

Sepsispatienten mit einer letal verlaufenden Erkrankung in der späten hypoinmunen Phase versterben [48].

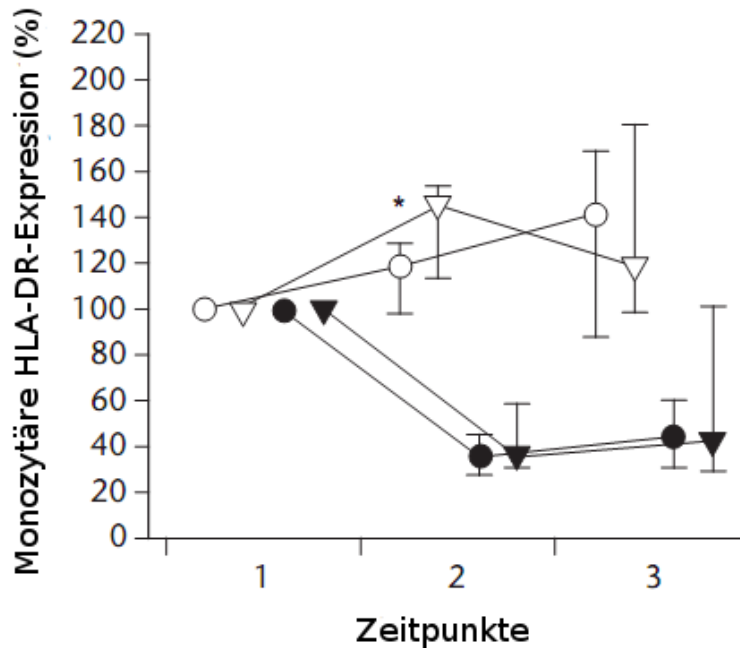


Abbildung 1.: Monozytäre HLA-DR-Expression nach Impfung (nach Spies et al. [51]).

Monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes behandelt mit operativer oder konservativer Therapie und mit oder ohne Impfung (Median und 25. und 75. Perzentilen). ○ - Nicht-Vakzinierungsgruppe (NVG) mit konservativer Therapie (n=11); ▽ - Vakzinierungsgruppe (VG) mit konservativer Therapie (n=11); ● - NVG mit operativer Therapie (n=10); ▼ - VG mit operativer Therapie (n=8). Zeitpunkt 1 - Baseline; Zeitpunkt 2 - erster postoperativer Tag; Zeitpunkt 3 - dritter postoperativer Tag. * p=0.016 für Patienten mit konservativer Therapie: NVG (Kontrolle) versus VG.

1.9. Immunmodulation durch Impfung

Es ist bekannt, dass die zellvermittelte Immunantwort durch Impfung gesteigert und die HLA-DR-Expression unterstützt werden kann [52, 53]. Im klinischen und experimentellen Setting konnte sowohl eine Steigerung der Sekretion der Th1-abhängigen Zytokine (wie IFN-gamma und IL-2), als auch der von der Th2-Antwort abhängigen Zytokine wie IL-4 und IL-10, gezeigt werden [54, 55].

In einer vorausgegangenen Pilotstudie konnte eine gesteigerte HLA-DR-Expression nach Impfung mit Influenzavakzine bei Patienten mit einem malignen Tumor des oberen Aerodigestivtraktes im Vergleich zu einer Placebogruppe nachgewiesen werden (siehe Abbildung

1) [51]. Die Ausschüttung von Zytokinen wurde in dieser Studie nicht durch die Impfung beeinflusst.

Es ist evident, dass eine Gripeschutzimpfung auch bei immunkompromittierten Krebspatienten sicher durchgeführt werden kann [56, 57]. In der erwähnten vorausgegangenen Studie konnten keine unerwünschten oder schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse im Zusammenhang mit der Impfung beobachtet werden [51].

2. Hypothesen

Die Haupt- und Arbeitshypothese der vorliegenden Studie war, dass eine präoperative Impfung mit Grippeimpfstoff bei Patienten mit einem malignen Tumor des oberen Aerodigestivtraktes die zellvermittelte Immunantwort im Sinne einer gesteigerten monozytären HLA-DR-Expression verbessert.

Nebenhypothesen waren:

Die präoperative Impfung reduziert die postoperative Rate an Infektionen (Auftreten von nosokomialen Pneumonien, *Systemic Inflammatory Response Syndrome* [SIRS], Sepsis oder chirurgischen Wundinfektionen).

Die präoperative Impfung verkürzt die Liegedauer auf der Intensivstation und die Beatmungsdauer.

Des Weiteren wurde untersucht, ob es Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsstrata Neck-Dissection und Ösophagusresektion in Bezug auf die monozytäre HLA-DR-Expression, die Rate an postoperativen Infektionen, die Verweildauer auf der Intensivstation und die Beatmungsdauer gibt.

3. Material und Methoden

3.1. Patienten

Die Studie wurde als randomisierte, prospektive, placebokontrollierte Doppelblindstudie konzipiert.

Es wurden Patienten eingeschlossen, bei denen eine Operation aufgrund eines Tumors des oberen Aerodigestivtraktes (entweder Neck-Dissection oder Ösophagusresektion) geplant war. Ausgeschlossen wurden Patienten, die jünger als 18 Jahre alt waren, schwangere oder stillende Frauen, Patienten, die die *American Society of Anesthesiologists* (ASA)-Klassifikation IV oder V [58] erfüllten sowie Patienten mit bekannter HIV-Infektion oder Leberzirrhose (Child-Pugh-Stadium B oder C) [59]. Jedwede diagnostizierte Infektion in den vorangegangenen 2 Wochen, Zustand nach Splenektomie, Organtransplantation oder ein Myokardinfarkt in den vorangegangenen 8 Wochen, Behandlung mit Glukokortikoiden in den vorangegangenen 4 Wochen, Diabetes mellitus mit Spätfolgen, Hypoproteinämie oder relevante psychiatrische Erkrankungen fielen ebenfalls unter die Ausschlusskriterien. Ferner wurden Patienten mit bekannter Unverträglichkeit oder Allergie gegen Komponenten des verwendeten Impfstoffs nicht in die Studie eingeschlossen.

Die Studie wurde durch die Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin mit Beschluss vom 9. März 2005 genehmigt (Antrags-Nummer: EA 1/048/04, siehe Anhang E.1). Die Patienten wurden eingeschlossen, nachdem sie nach erfolgter Aufklärung eine entsprechende schriftliche Einwilligungserklärung unterschrieben hatten (siehe Anhang E.2 und E.3).

Im Zeitraum zwischen November 2005 und Juli 2008 wurden insgesamt 106 Patienten bezüglich einer möglichen Studienteilnahme überprüft. Von diesen 106 Patienten verweigerten 12 die Studienteilnahme, 9 Patienten wurden aufgrund erfüllter Ausschlusskriterien nicht berücksichtigt und weitere 10 wurden aus anderen Gründen nicht in die Studie eingeschlossen (3 Patienten waren nicht einwilligungsfähig, bei 7 Patienten wurde die OP abgesagt).

Das Screening für die Studie wurde jeweils zwischen Juni und Oktober in den Jahren 2006 und 2007 unterbrochen, da in diesem Zeitraum der verwendete Impfstoff in der nördlichen Hemisphäre nicht zur Verfügung stand.

3.2. Gruppenzuordnung

Die Patienten wurden entweder der Vakzinierungsgruppe (VG) oder der Nicht-Vakzinierungsgruppe (NVG) randomisiert zugeordnet. Die Gruppen VG und NVG wurden weiterhin nach der Art des Eingriffs (entweder Neck-Dissection oder Ösophagusresektion) stratifiziert. Weder die Mitarbeiter der Studie, noch die Patienten selbst wussten welcher Gruppe sie zugeordnet worden waren (doppelblindes Studiendesign).

3.3. Studienprotokoll und Messungen

Als Basischarakteristika wurden vor der Operation Alter, Geschlecht, *Body Mass Index* (BMI) sowie das aktuelle Rauchverhalten der Patienten erfasst. Vorhandene Komorbiditäten, einschließlich arterieller Hypertonie, chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD), insulinabhängiger und nicht-insulinabhängiger Diabetes mellitus, Adipositas, das Vorhandensein einer infektiösen Hepatitis sowie Allergien wurden der Patientenakte entnommen. Zusätzlich wurde eine möglicherweise vorhandene Alkoholkrankheit mit Hilfe eines standardisierten Algorithmus [60, 61] unter Verwendung der Fragebögen CAGE [62] und *Alcohol Use Disorders Identification Test* (AUDIT) [63] diagnostiziert und dokumentiert. Die Anästhesie erfolgte entsprechend den *Standard Operating Procedures* (SOPs) der Klinik für Anästhesie und Intensivmedizin, Charite – Universitätsmedizin Berlin [64].

Entsprechend den Erfahrungen aus einer vorangegangenen Studie [51] wurden die Patienten der VG zweimal geimpft. Die erste Impfung erfolgte unmittelbar nach der ersten Blutentnahme (*Baseline*) am Tag vor der Operation. Die zweite Impfung erfolgte am OP-Tag um 7.00 Uhr.

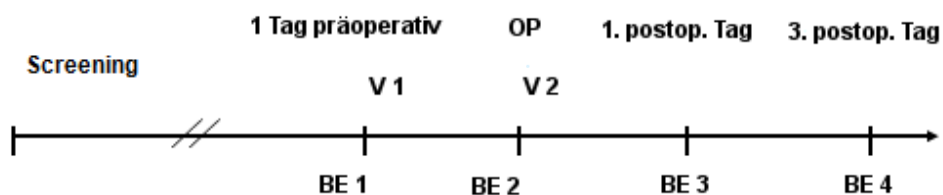


Abbildung 2.: Studieninterventionsschema.

BE - Blutentnahme; OP - Operation; postop. - postoperativer; V - Vakzinierung.

Jedem Patienten wurden entsprechend dem Studienprotokoll insgesamt vier Blutproben für die Bestimmung der monozytären HLA-DR Expression entnommen: Als Baseline (Blutentnahme [BE] 1) einen Tag präoperativ und unmittelbar vor der ersten Impfung, am Tag der Operation unmittelbar vor der zweiten Vakzinierung (BE 2) sowie am ersten (BE 3) und dritten postoperativen Tag (BE 4). Daraus ergibt sich das in Abbildung 2 dargestellte Interventionsschema.

3.4. Vakzinierung

Die Impfung erfolgte mittels eines inaktivierten Influenza-Spaltimpfstoffes für die nördliche Hemisphäre in einer Fertigspritze (MutagripTM, Sanofi Pasteur MSD, Lyon, Frankreich). Die Impfung (0,5 ml) wurde intramuskulär unter aseptischen Bedingungen in den M. deltoideus injiziert. Jede Impfdosis enthielt 15 µg Influenza-Viren (inaktiviert, gespalten) der folgenden Stämme: *A/New Caledonia/20/99 (IVR-116)*, *A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)*, *A/Wisconsin/67/2005 (NYMC X-161 oder NYMC X-161-B)* und *B/Malaysia/2506/2004*. Sonstige Bestandteile waren Hühnereiweiß, Natriumsalze (Natriumchlorid und Dinatriumhydrogenphosphatdihydrat), Kaliumsalze (Kaliumchlorid und Kaliumdihydrogenphosphat) sowie Wasser für Injektionszwecke. Die Patienten der NVG erhielten 0,5 ml 0,9% Kochsalzlösung intramuskulär.

3.5. HLA-DR-Expression auf Monozyten

Alle immunologischen Parameter wurden in Kooperation mit dem Institut für Medizinische Immunologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin analysiert.

Für die durchflusszytometrische Analyse der HLA-DR Expression wurden 50 µl Vollblut in einem Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Röhrchen mit 20 µl eines mit dem Fluoreszenzfarbstoff Phycoerythrin konjugierten anti-HLA-DR-Antikörpers und eines anti-CD14-Antikörpers (beide QuantiBRITETM, Becton Dickinson Biosciences, San Jose, USA) im Dunkeln für 30 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Für die Lyse der Erythrozyten wurden die Proben mit 0,5 ml einer FACS (*Fluorescence Activated Cell Sorting*)-Lösung für weitere 30 Minuten in Dunkelheit bei Zimmertemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Zellen mit 1 ml FACS-Puffer gewaschen und unter Verwendung eines FACSCaliburTM-Zytometers (Becton Dickinson Biosciences, San Jose, USA) analysiert [46].

Tabelle 1.: SIRS und Sepsis - Definitionen der *ACCP/SCCM Consensus Conferences* von 1991 und 2001 [66, 67]

SIRS	Klinischer Zustand, der durch das Vorliegen von mindestens zwei der folgenden Kriterien charakterisiert ist: - Körpertemperatur $>38^{\circ}\text{C}$ oder $<36^{\circ}\text{C}$, - Herzfrequenz $>90/\text{min}$, - Atemfrequenz $>20/\text{min}$ oder $\text{PaCO}_2 <32 \text{ mmHg}$, - Leukozyten $>12000/\text{mm}^3$ oder $<4000/\text{mm}^3$
Sepsis	SIRS hervorgerufen durch eine Infektion

SIRS - Systemic Inflammatory Response Syndrome; PaCO_2 - arterieller Kohlendioxidpartialdruck.

3.6. Procalcitonin-Messung

Die PCT-Konzentration wurde mithilfe eines kommerziell erhältlichen immunoluminometrischen Assays (Brahms, Hennigsdorf, Deutschland) bestimmt.

3.7. Postoperativer Verlauf

Der postoperative Aufenthalt auf der Intensivstation, einschließlich der Beatmungsdauer, sowie der sich anschließende Aufenthalt auf einer peripheren Krankenhausstation wurden dokumentiert. Die Nachbeobachtung der Patienten erfolgte bis zum einschließlich 30. postoperativen Tag.

Allgemeine Komplikationen, wie z.B. Infektionen, kardiopulmonale Insuffizienz, Delir, Blutung und andere chirurgische Komplikationen wurden täglich erfasst. Alle Infektionen wurden entsprechend der empfohlenen Kriterien des *Centers of Disease Control and Prevention* (CDC) diagnostiziert [65].

Im Fall einer nosokomialen Pneumonie wurde die Diagnose aufgrund von systemischen Zeichen einer Infektion, neu aufgetretenen oder sich verschlechternden Infiltraten im Röntgenbild des Thorax und neu aufgetretenem purulentem Sputum gestellt. Eine chirurgische Wundinfektion wurde diagnostiziert, wenn die Infektion innerhalb der ersten 30 Tage nach der Operation auftrat und wenn die Patienten wenigstens eines der folgenden Kriterien erfüllten: purulente Sekretion entweder aus der Tiefe oder der Oberfläche der Wunde, Nachweis einer Keimbesiedlung aus einem unter aseptischen Bedingungen gewonnenen tiefen oder oberflächlichen Wundabstrich oder Auftreten eines der folgenden Zeichen und Symptome: Schmerzen, Überwärmung, Schwellung oder Rötung.

Die Diagnosen SIRS oder Sepsis wurden anhand der aktuell akzeptierten Definitionen, basierend auf den Diagnosekriterien der Konsensuskonferenzen des *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine (ACCP/SCCM)* von 1991 bzw. 2001, gestellt (siehe Tabelle 1) [66, 67].

Die Ergebnisse der Routineblutentnahmen wurden ebenfalls dokumentiert. Folgende Laborparameter wurden verzeichnet: großes Blutbild, die Gerinnungsparameter *International Normalized Ratio* (INR), partielle Thromboplastinzeit (pTT), Thromboplastinzeit (TPZ), Antithrombin (AT)-III und Fibrinogen, die Leberwerte Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT) und Bilirubin, die Entzündungsparameter CRP und PCT sowie Albumin, Alkalische Phosphatase (AP), Eisen, *Carbohydrate Deficient Transferrin* (CDT), Glukose und Kreatinin.

3.8. Sicherheitsanalyse

Nach Beendigung der Studie und vor der statistischen Auswertung der erhobenen Daten wurde eine Sicherheitsanalyse durchgeführt, um die sichere Anwendung von MutagripTM im Vergleich zu Placebo bei chirurgischen Patienten mit einem Tumor des oberen Aerodigestivtraktes zu überprüfen.

In der Auswertung sind sämtliche während des Studienzeitraums aufgetretenen unerwünschten Ereignisse (*Adverse Events* [AE]) und schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse (*Serious Adverse Events* [SAE]) berücksichtigt worden. Im Rahmen der Sicherheitsanalyse wurden die erhobenen Daten erstmals entblindet.

3.9. Statistik

Die statistische Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. K.-D. Wernecke, SOSTANA GmbH, Berlin, Deutschland durchgeführt.

Die Studie wurde als prospektive, kontrollierte, doppelblinde stratifizierte und randomisierte Studie im Parallelgruppendesign angelegt. Basierend auf bisher unveröffentlichten eigenen Daten für den primären Endpunkt (HLA-DR Expression) mit einer Effektgröße von 0,65, wurde eine Fallzahl von 42 Patienten pro Gruppe berechnet (Verum vs. Placebo), ausgehend von einem nicht-parametrischen Test (Mann-Whitney-U-Test), einem Fehler erster Ordnung $\alpha=5\%$ (zweiseitig) und einer Power von 80%.

3. Material und Methoden

Alle Ergebnisse für metrisch skalierte Daten sind dargestellt als Mittelwert und Standardabweichung oder bei gesicherten Abweichungen von der Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test) als Median mit 25%-75% Quartilen. Häufigkeiten sind als Absolutwerte mit prozentualem Anteil angegeben.

Nach negativer Testung auf Normalverteilung und auf Grund der limitierten Stichprobengröße wurden metrisch skalierte Parameter mittels eines nicht-parametrischen Tests für unabhängige Stichproben verglichen (Mann-Whitney-U-Test). Nominal skalierte klinische Daten (Häufigkeiten) wurde mittels des Chi-Quadrat-Tests verglichen. Unterschiede zwischen den Behandlungsarmen wurden darüber hinaus sowohl univariat (nichtparametrische Kovarianzanalyse für den Zeitpunkt BE 3 mit Baseline BE 1 als Kovariate), als auch multivariat (nichtparametrische Kovarianzanalyse für Messwiederholungen für die Zeitpunkte BE 2, BE 3 und BE 4 mit Baseline BE 1 als Kovariate) verglichen. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgelegt. Multiple Tests (insbesondere für die sekundären Endpunkte oder für die getrennte Analyse nach Strata) wurden als explorative Datenanalyse durchgeführt. Daher erfolgte keine Adjustierung für multiple Tests. Alle Daten wurden mittels der Software „Statistical Package for the Social Sciences“ (PASW 18, IBM, Armonk, USA) and SAS, Version 9.1 (SAS-Institute, Cary, USA) ausgewertet.

Patienten, die während der Studie herausfielen (*Dropouts*) wurden nicht für die statistische Analyse, jedoch für die Sicherheitsanalyse berücksichtigt.

4. Ergebnisse

4.1. Patienteneinschluss

Insgesamt wurden 75 Patienten in die Studie eingeschlossen. Bei 9 Patienten konnte das Studienprotokoll nicht abschließend durchgeführt werden, da sie Ausschluss- oder Abbruchkriterien erfüllten (2 Patienten erhielten eine Glukokortikoidtherapie, bei 7 Patienten wurde die OP abgesagt). Auch ausgeschlossene Patienten blieben bis zum Ende der Studie verblindet. Somit wurden 66 Patienten in eine der zwei Behandlungsgruppen randomisiert und durchliefen die Studie vollständig (siehe Abbildung 3).

Bei 38 Patienten wurden Protokollverletzungen beobachtet (bei 18 Patienten in der VG und bei 20 Patienten in der NVG). Bei 13 Patienten wurde der OP-Zeitpunkt um ein oder zwei Tage verschoben. In diesen Fällen wurde die Impfung erneut am Tag vor der Operation sowie am Morgen des OP-Tages durchgeführt. In drei Fällen von Protokollverletzungen wurde die Untersuchung vorzeitig abgebrochen (bei 2 Patienten wurde die Operation abgesagt, 1 Patient erfüllte Ausschlusskriterien). Bei allen weiteren Protokollverletzungen handelte es sich um geringfügige Abweichungen, so dass diese Patienten nicht aus der Datenanalyse ausgeschlossen wurden. Die Daten von allen 66 Patienten, die die Studie durchlaufen haben wurden bei der abschließenden statistischen Analyse berücksichtigt.

4.2. Patientencharakteristika bei Studienbeginn

Die Patienten der beiden Gruppen (VG und NVG) unterschieden sich bei Studieneinschluss nicht signifikant hinsichtlich Geschlechtsverteilung, Alter, Größe, Gewicht oder BMI. Auch in Bezug auf bei Studienbeginn bestehende Komorbiditäten (Vorhandensein eines arteriellen Hypertonus, koronarer Herzkrankheit, COPD, Diabetes mellitus, Adipositas und Nierenerkrankungen) gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen Interventions- (VG) und Kontrollgruppe (NVG). Der Vergleich zwischen den Gruppen bezüglich des Vorhandenseins einer Alkoholkrankheit, zeigte signifikant mehr alkoholranke Patienten in der Impfgruppe ($p=0,03$). Hinsichtlich ihres Rauchverhaltens unterschieden sich die Patienten in beiden Gruppen nicht. Auch in Bezug auf eine vor Studienbeginn durchgeführte neoadjuvante Radiochemotherapie gab es keine signifikanten Unterschiede. Der monozytäre HLA-DR-Status der Patienten zum Zeitpunkt BE 1 (*Baseline*) unterschied sich zwischen Kontroll- und Impfgruppe nicht signifikant. Gleiches gilt für die Infektionsparameter (Leukozyten, CRP und PCT). Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Patientencharakteristika zu Studienbeginn.

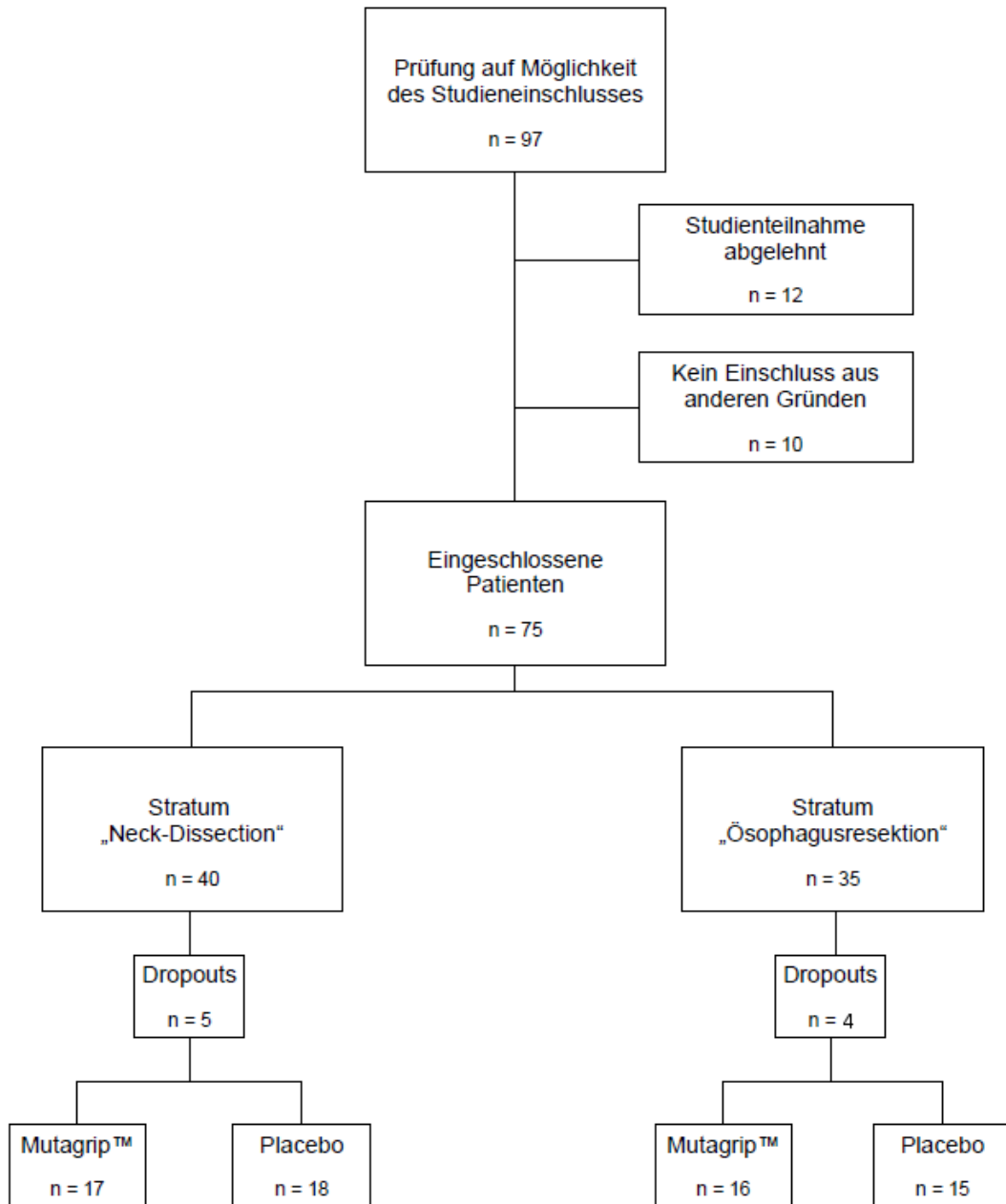


Abbildung 3.: Studieneinschlussdiagramm.

4. Ergebnisse

Tabelle 2.: Patientencharakteristika von Interventions- und Kontrollgruppe bei Studienbeginn.

Parameter		Interventionsgruppe (n=33)	Kontrollgruppe (n=33)	Gruppenvergleich (p)
Operation [n]	Neck-Dissection	18	17	0,80
	Ösophagusresektion	15	16	
Alter [Jahre]		60,1±9,2	63,2±10,0	0,23
Geschlecht [n]	weiblich	2	6	0,13
	männlich	31	27	
BMI [kg/m ²]		26,1±5,1	25,3±4,4	0,70
AUD [n]		15 (45%)	5 (15%)	0,03
NUD [n]		10 (30%)	5 (15%)	0,12
neoadjuvante Radiochemotherapie [n]		10 (30%)	7 (21%)	0,40
aHT [n]		16 (48%)	20 (60%)	0,23
KHK [n]		3 (9%)	6 (18%)	0,24
COPD [n]		5 (15%)	6 (18%)	0,50
Diabetes mellitus [n]		5 (15%)	5 (15%)	0,63
Nieren- insuffizienz [n]		3 (9%)	3 (9%)	0,55
monozytäre HLA-DR-Expression [Moleküle pro Zelle]		34241±10818	35479±13745	0,85
Leukozyten [n]		7,3±3,6	6,7±2,4	0,98
PCT [ng/ml]		0,08±0,03	0,08±0,05	0,27
CRP [mg/dl]		6,6±8,8	0,7±1,1	0,33

n - Anzahl; BMI - Body Mass Index; AUD - Alcohol Use Disorder; NUD - Nicotine Use Disorder; aHT - arterielle Hypertonie; KHK - koronare Herzkrankheit; COPD - Chronic Obstructive Pulmonary Disease; HLA-DR - Human Leukocyte Antigen-DR; PCT - Procalcitonin; CRP - C-reaktives Protein. Werte angegeben als Median ± Standardabweichung oder als Absolutwerte mit prozentuaalem Anteil. Ein Unterschied ist signifikant, wenn p < 0,05 ist (fett gedruckt).

4.3. Monozytäre HLA-DR-Expression

In beiden Studiengruppen nahm die monozytäre HLA-DR-Expression im Vergleich zur Baseline am ersten (BE 3) und dritten postoperativen Tag (BE 4) ab. Dabei konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Impf- und Placebogruppe beobachtet werden (10975 (7597-13559) Moleküle pro Zelle bzw. 9828 (7462-12798) Moleküle pro Zelle bei BE 3, $p=0,57$ und 10675 (6392-18897) Moleküle pro Zelle bzw. 10843 (7134-16481) Moleküle pro Zelle zum Zeitpunkt der vierten Blutentnahme (BE 4), $p=0,96$, Mann-Whitney-Test, siehe Abbildung 4).

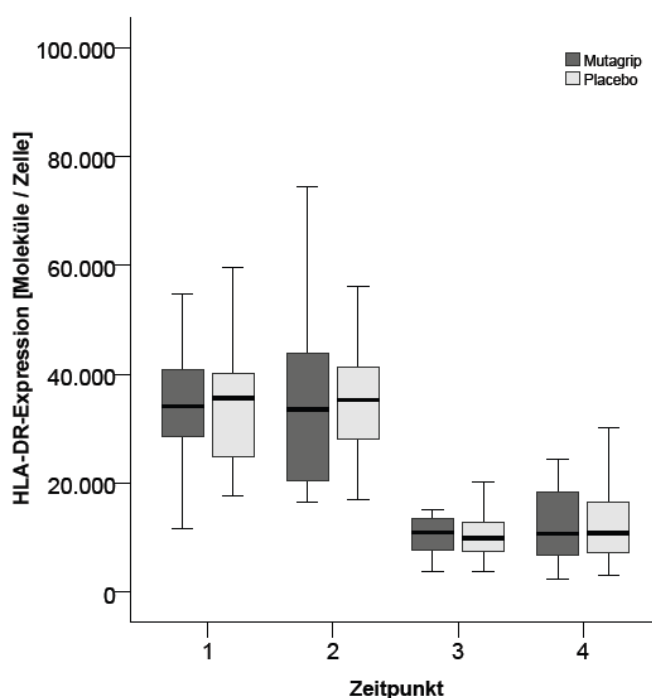


Abbildung 4.: Monozytäre HLA-DR-Expression in Interventions- und Kontrollgruppe.

Monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung (Median und 25. bis 75. Quartile, Minimum, Maximum und Spannweite).

Zeitpunkt 1 - Baseline (BE 1); Zeitpunkt 2 - präoperativ (BE 2); Zeitpunkt 3 - erster postoperativer Tag (BE 3); Zeitpunkt 4 - dritter postoperativer Tag (BE 4). HLA-DR - Human Leukocyte Antigen-DR; BE - Blutentnahme.

Auch der Vergleich zwischen den Behandlungsgruppen getrennt nach der Art des Eingriffs (Ösophagusresektion bzw. Neck-Dissection) am ersten postoperativen Tag (BE 3) ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen Interventions- und Kontrollgruppe (Ösophagusresektion: 8377 (5820-11190) Moleküle pro Zelle bzw. 9403 (6541-10918) Moleküle pro Zelle; $p=0,95$, Neck-Dissection: 12929 (10670-14451) Moleküle pro Zelle bzw. 9828 (7946-17087)

4. Ergebnisse

Moleküle pro Zelle; $p=0,32$). Gleiches gilt für den Zeitpunkt BE 4 am dritten postoperativen Tag für Interventions- bzw. Kontrollgruppe (Ösophagusresektion: 6392 (5009-9669) Moleküle pro Zelle bzw. 7934 (4948-12005) Moleküle pro Zelle; $p=0,78$, Neck-Dissection: 13056 (10521-21732) Moleküle pro Zelle bzw. 12534 (9508-24674) Moleküle pro Zelle; $p=0,94$, siehe Abbildung 5A bzw. B, Mann-Whitney-Test).

Auch die Kovarianzanalyse der Daten zeigt keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf die monozytäre HLA-DR-Expression in Impf- und Kontrollgruppe, $p=0,34$ (univariate nichtparametrische Kovarianzanalyse zum Zeitpunkt (BE 3) mit Baseline (BE 1) als Kovariate) und $p=0,72$ (multivariate nichtparametrische Kovarianzanalyse mit Baseline (BE 1) als Kovariate über alle Zeitpunkte BE 2, BE 3 und BE 4).

Betrachtet man für jede Gruppe einzeln (Impf- bzw. Kontrollgruppe) in der Kovarianzanalyse die Art des Eingriffs (Ösophagusresektion versus Neck-Dissection) als Faktor, so zeigt sich in der univariaten nichtparametrischen Kovarianzanalyse zum Zeitpunkt (BE 3) mit Baseline (BE 1) als Kovariate kein signifikanter Einfluss auf die HLA-DR-Expression in Impf- bzw. Kontrollgruppe ($p=0,86$ bzw. $0,76$). Die multivariate nichtparametrische Kovarianzanalyse über alle Zeitpunkte und BE 1 als Kovariate hingegen zeigt einen signifikanten Einfluss der Art des Eingriffs mit $p<0,0001$ in der Impfgruppe und $p=0,03$ in der Kontrollgruppe.

Die Auswertung der Daten zeigte weiterhin, dass sich die monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit AUD zwischen den beiden Studiengruppen nicht signifikant unterscheidet. Dies gilt sowohl für den Zeitpunkt BE 1 (Interventionsgruppe: 38536 (29516-49160) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 37046 (22558-44386) Moleküle pro Zelle; $p=0,15$), als auch für die Werte der Blutentnahmen im Verlauf (BE 2: Interventionsgruppe: 40474 (26684-44462) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 35343 (25218-48067) Moleküle pro Zelle; $p=0,63$, BE 3: Interventionsgruppe: 10772 (7832-15001) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 9678 (6279-16318) Moleküle pro Zelle; $p=0,37$ und BE 4: Interventionsgruppe: 9845 (7272-13056) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 10843 (5814-22815) Moleküle pro Zelle; $p=0,69$, siehe Abbildung 5C, Mann-Whitney-Test).

Die univariate nichtparametrische Kovarianzanalyse zum Zeitpunkt BE 3 mit AUD (ja/nein) als Faktor und BE 1 als Kovariate zeigt keinen signifikanten Einfluss der Alkoholkrankheit in Impf- bzw. Kontrollgruppe ($p=0,21$ bzw. $p=0,31$). Die multivariate nichtparametrische Kovarianzanalyse über alle Zeitpunkte mit AUD als Faktor und BE 1 als Kovariate zeigt $p=0,39$ in der Impf- und $p=0,73$ in der Kontrollgruppe. Die Ergebnisse der Kovarianzanalyse sind dargestellt in Tabelle 3.

Die Subgruppenanalyse im Stratum Ösophagusresektion zeigt, dass sich die monozytäre HLA-DR-Expression derjenigen Patienten, bei denen bis zum dritten postoperativen Tag

4. Ergebnisse

Tabelle 3.: Monozytäre HLA-DR-Expression: Ergebnisse der Kovarianzanalyse

Faktor	Univariate Kovarianzanalyse (p-Wert)	Multivariate Kovarianzanalyse (p-Wert)
Intervention (Mutagrip/Placebo)	0,34	0,72
AUD (ja/nein)	Mutagrip Placebo	0,21 0,31
Operation (Neck/Ösophagus)	Mutagrip Placebo	<0,0001 0,03

AUD - Alcohol Use Disorder; Neck - Neck-Dissection; Ösophagus - Ösophagusresektion. Dargestellt sind die Ergebnisse der univariaten Kovarianzanalyse zum Zeitpunkt BE 3 und der multivariaten Kovarianzanalyse über alle Zeitpunkte BE 2, BE 3 und BE 4 jeweils mit Baseline (BE 1) als Kovariate. Ein Unterschied ist signifikant, wenn $p < 0,05$ ist (fett gedruckt).

die Diagnose SIRS gestellt wurde, nicht signifikant zwischen Placebo- und Impfgruppe unterscheidet (BE 1: Interventionsgruppe: 49160 (36809-/) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 28535 (23871-/) Moleküle pro Zelle; $p=0,70$, BE 2: Interventionsgruppe: 40474 (35548-/) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 34318 (32110-/) Moleküle pro Zelle; $p=0,40$, BE 3: Interventionsgruppe: 7622 (5864-/) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 10158 (7438-/) Moleküle pro Zelle; $p=0,40$ und BE 4: Interventionsgruppe: 8061 (6346-/) Moleküle pro Zelle, Kontrollgruppe: 7349 (3246-/) Moleküle pro Zelle; $p=1,00$, siehe Abbildung 5D, Mann-Whitney-Test).

Auch die Subgruppenanalyse in Bezug auf Geschlecht, Rauchverhalten sowie hinsichtlich einer stattgehabten neoadjuvanten Chemotherapie erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe am ersten und dritten postoperativen Tag (BE 3 und BE 4).

Der Anteil der Patienten mit einer HLA-DR-Expression von weniger als 10000 Molekülen pro Zelle betrug 19% in der Impfgruppe gegenüber 27% in der Placebogruppe ($p=0,22$). Bei je zwei Patienten in beiden Studiengruppen wurde eine monozytäre HLA-DR-Expression von weniger als 5000 Molekülen pro Zelle (Immunparalyse) gemessen.

4.4. Postoperative Infektionen

Die kumulative Inzidenz der aufgetretenen postoperativen Infektionen ist dargestellt in Abbildung 6. Insgesamt betrachtet unterscheidet sich die Infektionsrate bis zum 10. postoperativen Tag zwischen Impf- und Placebogruppe nicht. Dennoch zeigt sich bis zum 5. postope-

4. Ergebnisse

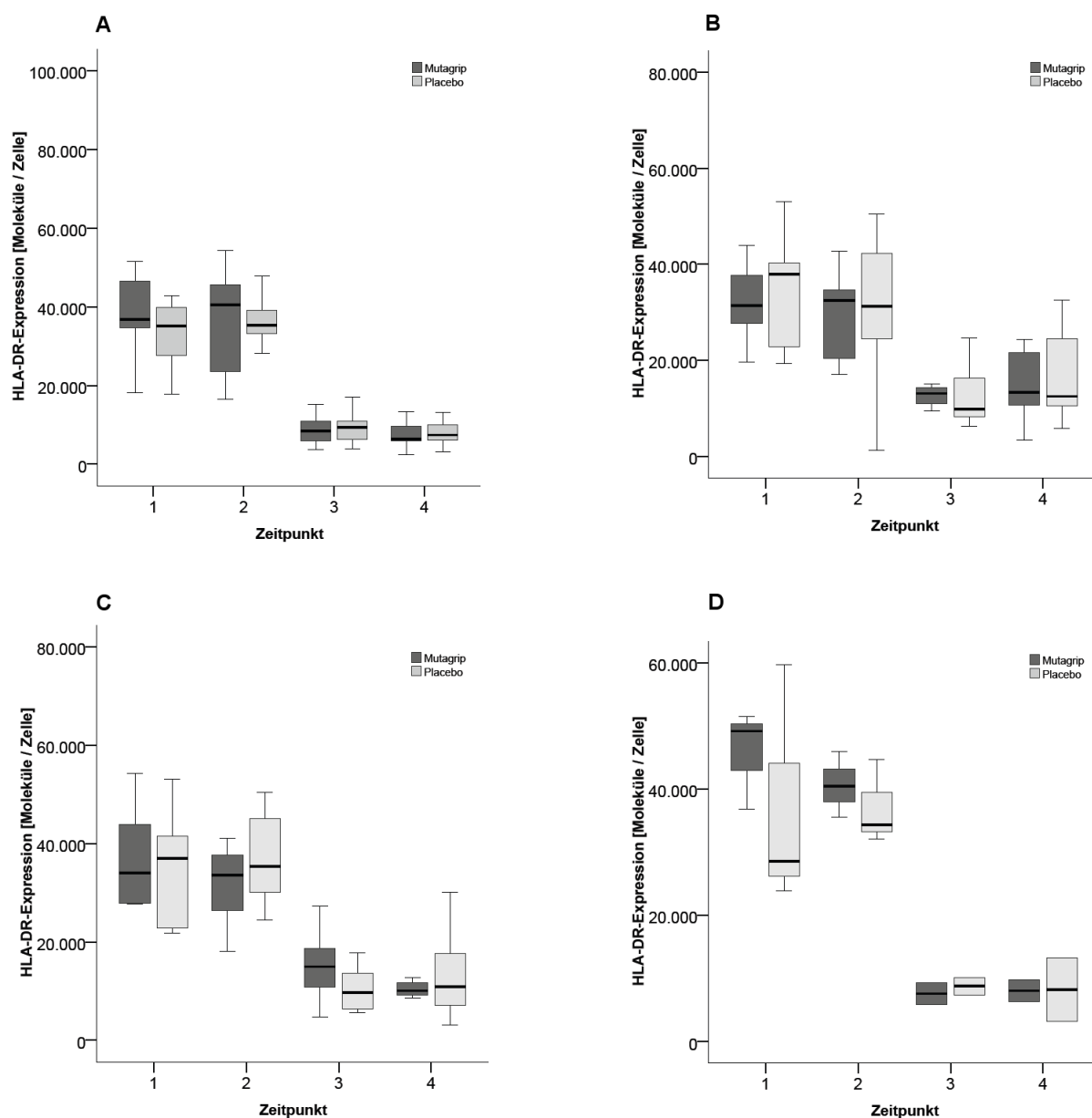


Abbildung 5.: Monozytäre HLA-DR-Expression nach Subgruppen.

A|Monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes behandelt mit Ösophagusresektion mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. **B**|Monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes behandelt mit Neck-Dissection mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. **C**|Monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes mit AUD mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. **D**|Monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes behandelt mit Ösophagusresektion mit postoperativem SIRS mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung.

Daten jeweils dargestellt als Median und 25. bis 75. Quartile, Minimum, Maximum und Spannweite. Zeitpunkt 1 - Baseline (BE 1); Zeitpunkt 2 - präoperativ (BE 2); Zeitpunkt 3 - erster postoperativer Tag (BE 3); Zeitpunkt 4 - dritter postoperativer Tag (BE 4). HLA-DR - Human Leukocyte Antigen-DR; AUD - Alcohol Use Disorder; SIRS - Systemic Inflammatory Response Syndrome; BE - Blutentnahme.

4. Ergebnisse

rativen Tag eine tendenziell niedrigere Infektionsrate in der Impfgruppe ($p=0,19$), während zwischen dem 6. und 10. postoperativen Tag die Inzidenz der Infektionen bei den geimpften Patienten verglichen mit den nicht geimpften Patienten signifikant höher ist ($p=0,02$).

In jeder Gruppe ist jeweils ein Patient verstorben (in der Interventionsgruppe aufgrund eines Myokardinfarktes, in der Kontrollgruppe als Folge eines septischen Multiorganversagens).

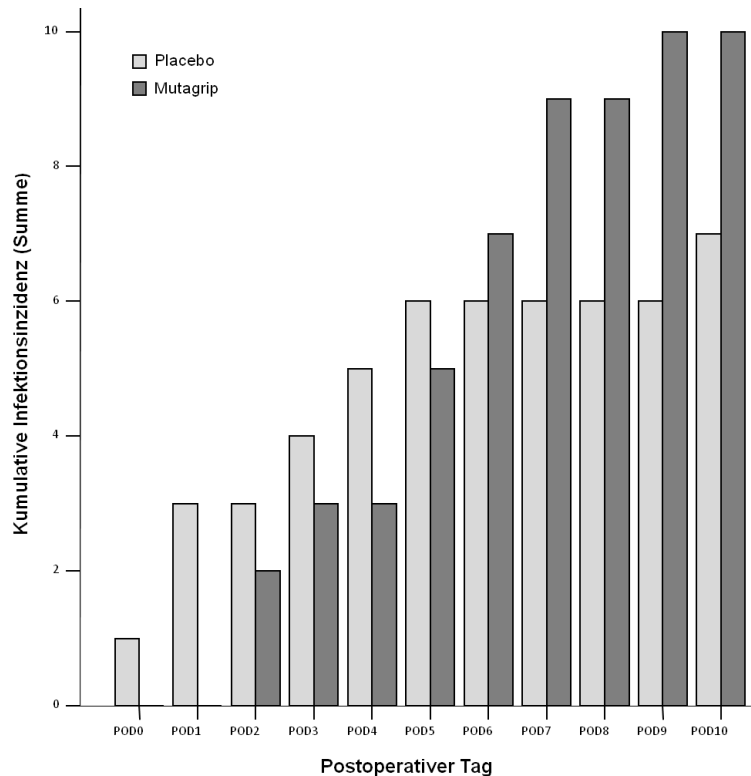


Abbildung 6.: Kumulative Inzidenz von postoperativen Infektionen in Interventions- und Kontrollgruppe.

Kumulative Inzidenz von postoperativen Infektionen bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. POD 1 bis POD 10: $p=0,83$; POD 1 bis POD 5: $p=0,19$ (Placebo>Mutagrip); POD 6 bis POD 10: $p=0,02$ (Mutagrip>Placebo)

POD - postoperativer Tag; POD 0 - OP-Tag.

4.5. Infektionsparameter

Der Verlauf der Standardinfektionsparameter (Leukozytenzahl, CRP und PCT) zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Am ersten postoperativen Tag (BE 3) zeigte sich ein PCT von 0,24 (0,08-0,45) ng/ml in der Interventions- und ein PCT von 0,24 (0,09-0,86) ng/ml in der Kontrollgruppe ($p=0,51$). Am dritten postoperativen Tag (BE 4)

fanden sich PCT-Werte von 0,19 (0,10-0,37) ng/ml in der Interventions- und 0,18 (0,10-0,68) ng/ml in der Kontrollgruppe ($p=0,61$, siehe Abbildung 7A), Mann-Whitney-Test.

Das PCT-Level blieb bei den Patienten, die sich einer Neck-Dissection unterzogen hatten sowohl in Interventions-, als auch Kontrollgruppe postoperativ niedrig (0,10 (0,07-0,23) ng/ml bzw. 0,10 (0,07-0,15) ng/ml am ersten postoperativen Tag [$p=0,76$] und 0,13 (0,08-0,18) ng/ml bzw. 0,10 (0,08-0,14) ng/ml am dritten postoperativen Tag [$p=0,73$], Mann-Whitney-Test). Auch in der Kovarianzanalyse unterschieden sich die PCT-Werte bei Patienten nach Neck-Dissection nicht signifikant ($p=0,65$ univariate nichtparametrische Kovarianzanalyse zum Zeitpunkt BE 3 mit BE 1 als Kovariate).

Im Gegensatz dazu stieg das PCT-Level bei den Patienten mit Zustand nach Ösophagusresektion in Interventions- und Kontrollgruppe an (0,45 (0,32-1,06) ng/ml bzw. 0,86 (0,40-2,67) ng/ml am ersten postoperativen Tag und 0,37 (0,27-0,65) ng/ml bzw. 0,68 (0,30-1,37) ng/ml am dritten postoperativen Tag). In der Kovarianzanalyse unterschieden sich die PCT-Werte bei Patienten nach Ösophagusresektion ebenfalls nicht signifikant ($p=0,10$, univariate nichtparametrische Kovarianzanalyse zum Zeitpunkt BE 3 mit BE 1 als Kovariate, siehe Abbildung 7B).

In Bezug auf die Leukozytenzahl erbrachte der Gruppenvergleich am ersten postoperativen Tag (BE 3) 5,68 (4,46-7,27) Leukozyten/nl in der Interventionsgruppe und 6,05 (4,06-7,71) Leukozyten/nl in der Kontrollgruppe ($p=0,69$). Am dritten postoperativen Tag zeigten sich 9,08 (7,30-11,58) Leukozyten/nl in der Interventions- und 10,55 (8,67-12,06) Leukozyten/nl in der Kontrollgruppe ($p=0,36$, Abbildung 7C, Mann-Whitney-Test). Auch in Hinblick auf die Art der chirurgischen Intervention (Neck-Dissection oder Ösophagusresektion) erbrachte die statistische Analyse keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der Leukozytenzahl zwischen beiden Interventionsgruppen.

Das CRP-Level betrug am ersten postoperativen Tag 18,63 (14,71-21,88) mg/dl in der Interventions- und 16,07 (13,56-20,42) mg/dl in der Kontrollgruppe ($p=0,23$). Am dritten postoperativen Tag zeigten sich 8,23 (6,13-12,23) mg/dl in der Interventions- und 11,85 (6,28-15,73) mg/dl in der Kontrollgruppe ($p=0,35$, Abbildung 7D), Mann-Whitney-Test. Auch die Subgruppenanalyse nach der Art des Eingriffs erbrachte hinsichtlich des CRP-Verlaufs keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Interventionsgruppen.

4.6. Klinische Kennzahlen

Die mittlere Verweildauer auf der Intensivstation (ICU) betrug $3,6 \pm 5,0$ Tage in der Impfgruppe und $5,8 \pm 14,0$ Tage in der Placebogruppe ($p=0,81$). Die postoperative Beatmungs-

4. Ergebnisse

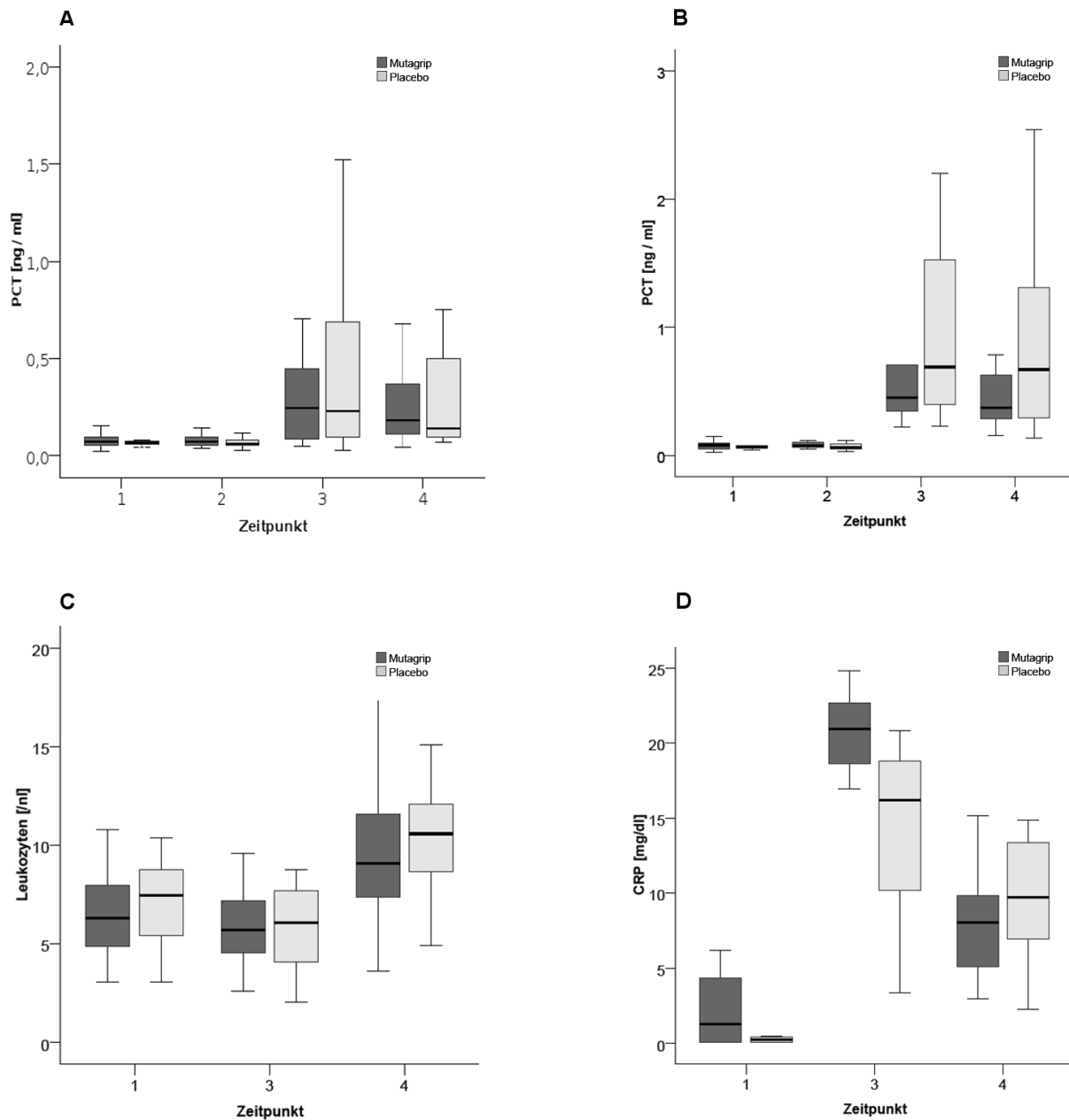


Abbildung 7.: Verlauf der Infektionsparameter.

A|PCT-Verlauf bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. **B**|PCT-Verlauf bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes behandelt mit Ösophagusresektion mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. **C**|Leukozyten-Verlauf bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. Keine Datenerhebung zum Zeitpunkt 2. **D**|CRP-Verlauf bei Patienten mit Tumor des oberen Aerodigestivtraktes behandelt mit (Mutagrip) oder ohne (Placebo) Impfung. Keine Datenerhebung zum Zeitpunkt 2.

Daten jeweils dargestellt als Median und 25. bis 75. Quartile, Minimum, Maximum und Spannweite. Zeitpunkt 1 - Baseline (BE 1); Zeitpunkt 2 - präoperativ (BE 2); Zeitpunkt 3 - erster postoperativer Tag (BE 3); Zeitpunkt 4 - dritter postoperativer Tag (BE 4). PCT - Procalcitonin; CRP - C-reaktives Protein; BE - Blutentnahme.

4. Ergebnisse

Tabelle 4.: Klinische Kennzahlen von Interventions- und Kontrollgruppe.

	Interventionsgruppe (n = 33)	Kontrollgruppe (n = 33)	Gruppenvergleich (p)
ICU [Tage]	3,6 ±5,0	5,8 ±14,0	0,81
Hospital [Tage]	18,6 ±19,2	21,5 ±21,0	0,31
TOV [Stunden]	28 ±68	20 ±63	0,82
Todesfälle [n]	1 (3%)	1 (3%)	1,00

n - Anzahl; ICU - Verweildauer auf der Intensivstation; Hospital - Krankenhausverweildauer; TOV - Time On Ventilator (postoperative Nachbeatmungsdauer bis einschließlich 15. postoperativer Tag). Werte angegeben als Median ± Standardabweichung oder als Absolutwerte mit prozentualem Anteil. Ein Unterschied ist signifikant, wenn $p < 0,05$ ist.

dauer (*Time On Ventilator* [TOV]) betrug 28 ± 68 Stunden in der Impfgruppe und 20 ± 63 Stunden in der Placebogruppe ($p=0,82$) und unterschied sich damit nicht (siehe Tabelle 4). Interventions- und Kontrollgruppe unterscheiden sich auch unter Berücksichtigung der Art des Eingriffs nicht hinsichtlich Verweildauer auf der Intensivstation und Beatmungsdauer. Patienten, die mit einer Neck-Dissection behandelt wurden, wiesen in Interventions- bzw. Kontrollgruppe eine deutlich kürzere Verweildauer auf der Intensivstation ($0,5 \pm 0,5$ bzw. $0,9 \pm 1,0$ Tage versus $7,3 \pm 5,3$ bzw. $10,6 \pm 18,8$ Tage) und eine kürzere Beatmungsdauer (6 ± 7 bzw. 7 ± 10 Stunden versus 54 ± 93 bzw. 35 ± 91 Stunden) auf als Patienten, die sich einer Ösophagusresektion unterzogen.

4.7. Sicherheitsanalyse

4.7.1. Grundlagen der Sicherheitsanalyse

Die Sicherheitsanalyse basiert auf der Gruppe der Studienteilnehmer ($n=75$), die mit Mutagrip ($n=38$) oder Placebo ($n=37$) per Protokoll behandelt wurden. Zusätzlich wurden nach dem Monitoring neun randomisierte Patienten als Dropouts definiert, sieben Patienten davon haben das Prüfpräparat erhalten. Die Datensätze dieser Patienten wurden hinsichtlich der Sicherheitsparameter mit ausgewertet.

4.7.2. Unerwünschte Ereignisse

Es sind im Rahmen dieser klinischen Prüfung 157 unerwünschte Ereignisse bei 55 Studienpatienten (inklusive sieben AE bei den Dropouts) dokumentiert worden. Bei 30 Patienten in der Impfgruppe traten AE auf und bei 25 Patienten in der Placebogruppe (siehe Tabelle 5).

Sowohl in der Interventions-, als auch in der Kontrollgruppe traten gehäuft unerwünschte Ereignisse wie Hypotonie (9,6% aller AE), Pleuraergüsse (5,7% aller AE), Fieber (5,1% aller AE), Diarrhoe (3,8% aller AE), Schmerzen (3,8% aller AE) und Hypertonie (3,2% aller AE) auf. In der Impfgruppe traten um 50% häufiger Hypotonien (7% der AE) und Pleuraergüsse (3,8% der AE) als in der Placebogruppe (Hypotonie 2,5% der AE und Pleuraergüsse 1,9% der AE) auf, in der Placebogruppe hingegen häufiger Fieber (6,8% der AE) im Vergleich zur Impfgruppe (1,3% der AE in der Impfgruppe).

Ein AE bei einem Studienpatienten in der Interventionsgruppe wies einen sicheren kausalen Zusammenhang zum Studienmedikament auf (Schwellung am Injektionsort nach intramuskulärer Gabe von MutagripTM). Ein AE bei einem Studienpatienten in der Interventionsgruppe wies einen wahrscheinlichen kausalen Zusammenhang zum Prüfpräparat auf (Erythem am Injektionsort nach intramuskulärer Gabe von MutagripTM). Es fand bei diesen Ereignissen keine frühzeitige Entblindung statt, sodass der vermutete Zusammenhang erst bei Entblindung nach Datenbankschluss bestätigt werden konnte.

Bei 98,7% der unerwünschten Ereignisse bestand kein kausaler Zusammenhang zu den Prüfpräparaten.

4.7.3. Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse

Es sind im Rahmen dieser klinischen Prüfung 58 schwerwiegende unerwünschte Ereignisse bei 25 Studienpatienten gemeldet worden. Bei den Patienten, die Dropouts wurden, sind keine SAE aufgetreten und gemeldet worden. Das Auftreten von SAE war über beide Studiengruppen nahezu gleich verteilt: 34 SAE bei 15 Patienten in der Impfgruppe und 24 SAE bei 10 Patienten in der Placebogruppe (siehe Tabelle 5).

Folgende SAE traten gehäuft auf: Pneumonie (12,1% aller SAE), Delir (10,4% aller SAE), Anastomoseninsuffizienz (8,6% aller SAE), Wundinfektion (6,9% aller SAE), Nachblutung (6,9% aller SAE), respiratorische Insuffizienz (5,2% aller SAE) und Dyspnoe (3,4% aller SAE). Es gibt keine relevanten Unterschiede hinsichtlich des Auftretens von SAE in den beiden Studiengruppen.

4. Ergebnisse

Tabelle 5.: Unerwünschte Ereignisse und schwerwiegende unerwünschte Ereignisse

Gruppe		Gesamtfälle [n]	Fälle der Sicherheitsana- lyse [n]	Fälle mit AE bzw. SAE [n_{AE} bzw. n_{SAE}]	Anzahl der AE bzw. SAE [n]	Anteil der n_{AE} bzw. n_{SAE} in der Gruppe [%]	Anteil an der Ge- samtzahl der AE bzw. SAE [%]
AE	Mutagrip	38	38	30	87	40	55
	Placebo	37	37	25	70	33	45
	Summe	75	75	55	157	73	100
SAE	Mutagrip	38	38	15	34	20	59
	Placebo	37	37	10	24	13	41
	Summe	75	75	25	58	33	100

n - Anzahl; AE - Adverse Event (unerwünschtes Ereignis); SAE - Serious Adverse Event (schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis). Dargestellt sind Anzahl und Häufigkeiten von unerwünschten Ereignissen und schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen gesamt, nach Behandlungsgruppen und prozentual. Werte angegeben als Absolutwerte oder als prozentuale Anteile.

Bei 100% der schwerwiegenden unerwünschten Ereignisse bestand kein kausaler Zusammenhang zu den Prüfpräparaten.

4.7.4. Nachbeobachtung

Es wurden im Rahmen der klinischen Prüfung zwei Todesfälle gemeldet. Ein Patient der Impfgruppe verstarb innerhalb des Beobachtungszeitraumes einen Tag nach der letzten Gabe des Prüfpräparates an Herz-Kreislaufversagen. Ein Patient der Placebogruppe verstarb außerhalb der Nachbeobachtungszeit 36 Tage nach Gabe des Prüfpräparates. Die Todesfälle wurden als nicht im Zusammenhang mit der Gabe der Prüfpräparate stehend gemeldet und bewertet, da in beiden Fällen die Komorbiditäten und intensivmedizinische Erkrankungen im Vordergrund standen. Es bestand bei diesen Ereignissen kein kausaler Zusammenhang zu den Prüfpräparaten und es war keine Entblindung erforderlich.

5. Diskussion

Die monozytäre HLA-DR-Expression unterschied sich zwischen Interventions- und Kontrollgruppe nicht, damit konnte die Arbeitshypothese nicht bestätigt werden.

In einer vorausgegangenen Pilotstudie der gleichen Arbeitsgruppe [51] konnte gezeigt werden, dass eine Impfung mit Influenza-Hämagglutinin-Antigenen die HLA-DR-Expression bei Patienten mit einem Tumor des oberen Aerodigestivtraktes, die sich einer konservativen Therapie unterzogen haben, signifikant steigert. Im Vergleich dazu war dieser Effekt bei den Patienten, die sich einer chirurgischen Intervention unterzogen (nur Neck-Dissection, keine Ösophagusresektionen) nicht zu beobachten. Man hat im Rahmen dieser Ergebnisse geschlussfolgert, dass ein chirurgisches Trauma eine durch die Impfung hervorgerufene Erhöhung der monozytären HLA-DR-Expression wieder aufhebt. Auch in der nun vorliegenden Studie wurde die HLA-DR-Expression auf Monozyten nach chirurgischer Intervention durch die durchgeführte präoperative Impfung nicht beeinflusst.

Gemäß der vorausgegangenen Pilotstudie wurde auch in der vorliegenden Untersuchung zweimal geimpft. Ein entscheidender Unterschied findet sich in der Art der chirurgischen Intervention. In der vorliegenden Studie wurden neben Patienten, die sich einer Neck-Dissection unterzogen auch Patienten mit geplanter Ösophagusresektion berücksichtigt. Diese Operation stellt einen Zweihöhleneingriff dar, bei dem sowohl Thorax, als auch Abdomen eröffnet werden. Es handelt sich also um einen deutlich invasiveren Eingriff als die Neck-Dissection

Es ist bekannt, dass invasivere Chirurgie im Vergleich zu weniger invasiven Eingriffen (z.B. laparoskopische Operationen) zu einer stärkeren postoperativen Immunsuppression führt [68, 34, 69, 70]. In der vorliegenden Studie war die postoperative HLA-DR-Expression auf Monozyten bei den Patienten, die sich einer Ösophagusresektion unterzogen im Vergleich zu denen, die mit einer Neck-Dissection therapiert wurden, tendenziell niedriger, jedoch ohne statistische Signifikanz. In der Kovarianzanalyse konnte jedoch ein signifikanter Einfluss der Art der chirurgischen Intervention auf die monozytäre HLA-DR-Expression sowohl in Interventions- als auch Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse bestätigen die aktuelle Studienlage und zeigen erneut, dass das Ausmaß des chirurgischen Traumas Einfluss auf die postoperative Immunsuppression nimmt.

Möglicherweise sind also die positiven Effekte der Vakzinierung auf die monozytäre HLA-DR-Expression aufgrund der Invasivität und Größe des chirurgischen Traumas und der damit einhergehenden verstärkten Immunsuppression nicht mehr zu erkennen. Unter Umständen müssten die Patienten mehr als zweimal präoperativ geimpft werden, um der ausgeprägten Immunsuppression durch die Operation sichtbar entgegenzuwirken.

Berücksichtigt werden muss auch der Einfluss einer stattgehabten Allgemeinanästhesie auf das Immunsystem [60, 71]. Von Dossow et al. konnten an ähnlichem Patientengut wie in der vorliegenden Studie (langzeit-alkoholranke Patienten) zeigen, dass die postoperative Infektionsrate bei Patienten, die eine Isofluran-Narkose erhielten, im Vergleich signifikant höher war, als bei Patienten, die mit einer total intravenösen Anästhesie (TIVA) mit Propofol betäubt wurden. In der vorliegenden Studie wurden die Patienten zwar standardmäßig mittels TIVA anästhesiert, trotzdem muss ein möglicher negativer Einfluss auf die Immunantwort erwogen werden.

Hinzu kommen die Besonderheiten des Patientenguts in der vorliegenden Studie. Die Anzahl der alkoholkranken Patienten in Interventions- bzw. Kontrollgruppe unterscheidet sich signifikant (45% bzw. 21%, $p=0,03$). Es ist gut untersucht und bekannt, dass chronisch alkoholranke Patienten schon präoperativ durch eine Immunsuppression, sowie durch eine veränderte Immunantwort auf chirurgischen Stress auffallen [23, 25]. Weiter weiß man, dass chronisch alkoholranke Patienten beim Auftreten einer Infektion und im frühen septischen Schock niedrigere Level proinflammatorischer Immunparameter aufweisen im Vergleich zu nicht alkoholkranken Patienten [28]. Auch erhöhte Infektionsraten und ein verlängerter intensivmedizinischer Aufenthalt nach chirurgischer Intervention konnten bei Patienten mit Alkoholkrankheit nachgewiesen werden [31]. In der vorliegenden Studie jedoch konnte kein Einfluss der Alkoholkrankheit auf die monozytäre HLA-DR-Expression nachgewiesen werden (Kovarianzanalyse mit AUD als Faktor und Baseline als Kovariate). Auch der Verlauf der HLA-DR-Expression bei Patienten mit Alkoholkrankheit zeigt in Impf- und Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede.

Bisher sind Studien, die sich mit der monozytären Funktionseinschränkung und HLA-DR-Expression sowie der zellvermittelten Immunantwort nach Influenza-Impfung beschäftigen nur an nicht chirurgischen Patienten durchgeführt worden [52, 72, 73].

Die Studiengruppe von Haining et al. konnte eine gesteigerte HLA-DR-Expression nach Vakzinierung mit Influenza-Impfstoff bei Kindern mit Zustand nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation nachweisen [52]. Die Studienergebnisse von Holvast et al. zeigten erhöhte Level von Interferon (IFN)-gamma nach Influenzaimpfung bei Patienten mit systemischen Lupus Erythematoses (SLE), ebenso wie in der Kontrollgruppe bei gesunden Probanden [72]. Avetisyan et al. haben sich ebenfalls mit Patienten nach Stammzelltransplantation (in diesem Fall Erwachsene) beschäftigt und konnten zeigen, dass eine saisonale Grippeimpfung die zelluläre Immunantwort fördert [73]. Dies gilt sowohl für die Patientengruppe, als auch für die gesunden Probanden der Kontrollgruppe. Diese protektiven Effekte fielen bei den Erkrankten jedoch geringer aus, insbesondere bei denen, die mit kurzem Zeitabstand nach der Stammzelltransplantation geimpft wurden.

Die Ergebnisse dieser Studien zeigen also, dass auch Patienten mit kompromittiertem Immunsystem (Z.n. Stammzeltransplantation, SLE) von einer Influenzaimpfung profitieren. Gleichwohl handelt es sich natürlich um eine vollständig andere Form der Immunsuppression als in der vorliegenden Studie (chirurgisches Trauma, AUD).

Insgesamt wird die klinische Relevanz der postoperativen HLA-DR-Expression auf Monozyten in der Literatur kontrovers diskutiert. Eine Vielzahl von Studien konnte nachweisen, dass eine erniedrigte postoperative HLA-DR-Expression mit einer erhöhten Rate an Komplikationen einhergeht [39, 47, 48, 49, 74, 75, 76].

Beispielsweise konnten Schinkel et al. zeigen, dass die Entstehung einer Sepsis mit einer signifikant erniedrigten Monozytenzahl sowie mit einer Suppression der HLA-DR-Rezeptor-Expression einhergeht. Das Level der monozytären HLA-DR-Expression korreliert mit der Schwere der Sepsis und dem Outcome [39].

Diese Ergebnisse konnten von Allen et al. bestätigt werden. In der durchgeführten Untersuchung hatten die Patienten mit erniedrigtem HLA-DR-Level in der frühen postoperativen Phase ein deutlich erhöhtes Risiko für ein später auftretendes SIRS oder eine Sepsis [77].

Gessler et al. konnten nachweisen, dass ein erhöhtes Risiko für bakterielle Infektionen nach pädiatrischer Herzchirurgie durch die präoperative Bestimmung der Monozytenfunktion antizipiert werden kann [78].

Gegensätzliche Resultate erbrachte die Studie von Oczenski et al. [79]. Die Untersuchung zeigte, dass bei Patienten nach Herzoperationen die Bestimmung der prä- und unmittelbar postoperativen HLA-DR-Level während der ersten 24 Stunden nicht hilfreich ist, um ein erhöhtes Risiko für postoperatives SIRS, Sepsis oder infektiöse Komplikationen vorauszusagen.

Trotzdem spricht die Studienlage dafür, dass die HLA-DR-Expression als verlässlicher Marker für die Entwicklung einer monozytären Anergie, sowie für die Prognose sekundärer nosokomialer Infektionen kritisch kranker Patienten verwendet werden kann [80].

In der vorliegenden Studie zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der gängigen Entzündungsparameter (PCT, CRP und Leukozytenzahl) zwischen Interventions- und Kontrollgruppe. Betrachtet man jedoch die beiden Strata Ösophagusresektion und Neck-Dissection getrennt, so zeigen sich bei den Patienten, die sich einer Ösophagusresektion unterzogen, tendenziell niedrigere PCT-Level in der Impfgruppe, jedoch ohne statistische Signifikanz. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass eine präoperative Vakzinierung die

postoperativ auftretende Immunsuppression reduzieren kann. Dieser Effekt war bei Patienten nach Neck-Dissection nicht zu beobachten. Es zeigen sich also auch beim PCT-Level Unterschiede in Bezug auf die Art und Größe der chirurgischen Intervention.

PCT gilt als inflammatorischer Marker und ist kennzeichnend für das Auftreten einer bakteriellen Infektion oder Sepsis [81, 82]. Trotzdem wird die Rolle von PCT als Parameter im klinischen Alltag und als Prädiktor für das spätere Outcome noch immer kontrovers diskutiert.

Im Hinblick auf die Vorhersage infektiöser Komplikationen fanden beispielsweise Oberhofer et al. in ihrer Untersuchung keinen Vorteil einer routinemäßigen PCT-Bestimmung nach kolorektaler Chirurgie gegenüber der alleinigen CRP-Messung [83]. Gleichwohl wächst die Evidenz in Bezug auf den positiven Nutzen der PCT-Bestimmung, um bakterielle Infektionen zu sichern und die antibiotische Therapie zu leiten [84]. Der aktuellen Literatur nach zu urteilen, wurden bis jetzt keine Studien durchgeführt, die sich mit der Messung von PCT-Konzentrationen vor und nach Influenza-Impfung beschäftigen.

Insgesamt unterschied sich die Inzidenz postoperativer Infektionen bis zum 10. postoperativen Tag zwischen Interventions- und Kontrollgruppe nicht. Auch zwischen dem 0. (OP-Tag) und 5. postoperativen Tag konnte kein signifikanter Unterschied in der Inzidenz postoperativer Infektionen gezeigt werden, was konsistent ist zum fehlenden Effekt der Vakzinierung auf die monozytäre HLA-DR-Expression. Zwischen dem 6. und 10. postoperativen Tag jedoch war die kumulative Inzidenz von Infektionen in der VG im Vergleich zur NVG signifikant erhöht. Dieses Ergebnis ist überraschend und steht in komplettem Gegensatz zu der Hypothese, dass eine präoperative Impfung die postoperative Rate an Infektionen reduzieren kann. Da dieses Ergebnis erst nach Entblindung aller Patienten während der finalen Datenanalyse sichtbar wurde und nicht Gegenstand der Sicherheitsanalyse war, führte es auch nicht zu einer frühzeitigen Unterbrechung der Studie. Trotzdem impliziert dieses Ergebnis, dass Patienten, die vor einer Operation geimpft wurden, möglicherweise ein erhöhtes Risiko für postoperative Infektionen haben. In der Tendenz war die Inzidenz der Infektionen zwischen dem 0. und 5. postoperativen Tag in der Impfgruppe niedriger. Man könnte also auch konstatieren, dass diese Patienten unter Umständen von einer nochmaligen Impfung zu einem späteren Zeitpunkt profitieren würden. Dies müsste im Rahmen einer größeren randomisierten Folgestudie jedoch erst verifiziert werden.

In Bezug auf die sekundären Endpunkte Beatmungsdauer und Verweildauer auf der Intensivstation zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Interventions- und Kontrollgruppe. Die Patienten, die sich einer Neck-Dissection unterzogen, verbrachten postoperativ nur eine sehr kurze Zeitspanne auf der Intensivstation (im Median 0,5 Tage). Die Effekte

einer Vakzinierung auf das Immunsystem sind möglicherweise zu gering, um diese per se kurze Verweildauer noch weiter zu verkürzen. Allerdings konnten auch bei den Patienten, die sich einer Ösophagusresektion unterzogen, mit deutlich längerer Verweildauer auf der Intensivstation (im Median 7,3 Tage) keine signifikanten Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe gezeigt werden.

Die erhobenen Werte, sowohl für die postoperative Beatmungsdauer als auch für die Verweildauer auf der Intensivstation, unterlagen im Stratum Ösophagusresektion einer hohen Streuung. Zu erklären ist dies durch die Tatsache, dass die Daten zweier langzeitbeatmter Patienten in die statistische Analyse mit eingeflossen sind. Auch ohne Berücksichtigung dieser beiden Patienten konnten keine Unterschiede zwischen Impf- und Kontrollgruppe in Bezug auf die Intensivverweildauer und die Beatmungszeit nachgewiesen werden. Die Ergebnisse sind konsistent mit der vorausgegangenen Pilotstudie [51]. Auch dort konnten weder die Verweildauer auf der Intensivstation noch die Beatmungsdauer beeinflusst werden.

Die Anwendung der Prüfsubstanzen MutagripTM und Placebo ist in der vorliegenden Studie im Rahmen der klinischen Prüfung als sicher bewertet worden. Insgesamt wurden zwei Ereignisse an Studienpatienten beobachtet, die direkt mit der Impfung in Verbindung gebracht werden konnten (lokale Schwellung bzw. Erythem an der Injektionsstelle). In beiden Fällen handelte es sich laut Fachinformation des Herstellers um eine zu erwartende Nebenwirkung [85]. Eine frühzeitige Beendigung der Untersuchung aufgrund von Sicherheitsbedenken war nicht notwendig.

Das gehäufte Auftreten von unerwünschten Ereignissen wie Hypotonie, Pleuraerguss, Fieber, Diarrhoe, Schmerzen und Hypertonie ist im Rahmen des operativen Settings von Neck-Dissection und Ösophagusresektion und dem damit im Zusammenhang stehendem postoperativen Intensivaufenthalt zu erwarten gewesen und konnte nicht auf einen Einfluss durch die Gabe der Prüfpräparate zurückgeführt werden. Das unterschiedlich häufige Auftreten der verschiedenen unerwünschten Ereignisse beim Vergleich von Impf- und Placebogruppe hing ebenfalls mit den jeweiligen Komorbiditäten nach der Operation der Studienpatienten zusammen und konnte nicht mit der Gabe der Prüfpräparate in Zusammenhang gebracht werden.

Das Auftreten von schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen wie Pneumonie, Delir, Anas-tomosensinsuffizienz, Wundinfektion, Nachblutung, respiratorischer Insuffizienz und Dyspnoe ist in dem operativen Setting der vorliegenden Arbeit ebenfalls zu erwarten gewesen und konnte in keinem Fall auf die Gabe der Studienmedikation zurückgeführt werden. Ebenso ergab sich bei den beiden in der vorliegenden Arbeit aufgetretenen Todesfällen kein Zusammenhang zur Studienmedikation.

Der aktuellen Studienlage folgend, gilt die Anwendung von Influenzaimpfstoff an immun-kompromittierten Patienten momentan als sicher. [86]. Beispielsweise haben Ullmann et al. die sichere und effektive Anwendung an Patienten mit Leukämie nachgewiesen [56]. Gleiches gilt für die durchgeführten Impfstudien von Avetisyan et al. an Patienten, die sich einer Stammzelltransplantation unterziehen mussten [57, 73].

Es existieren nur wenige Studien, die sich mit einer Influenzaimpfung im Rahmen eines chirurgischen Settings beschäftigen. In der vorausgegangen Pilotstudie [51], wurde die Anwendung von Influenzaimpfstoff an chirurgischen Patienten mit bösartigem Tumor als sicher bewertet. Auch in der vorliegenden Untersuchung konnten keine schweren unerwünschten Reaktionen in Zusammenhang mit dem Impfstoff beobachtet werden, trotzdem zeigt diese Studie, dass eine präoperative Impfung in einer erhöhten postoperativen Inzidenz an Infektionen nach dem 5. postoperativen Tag resultiert. Dieser Effekt wurde im Rahmen dieser Untersuchung erstmals nachgewiesen und bedarf sicher weiterer Verifizierung, trotzdem gibt das Ergebnis einen ersten Hinweis darauf, dass eine präoperative Impfung möglicherweise vermieden werden sollte.

Zu bemerken ist, dass das Studiendesign verschiedenen Limitationen unterliegt. Zum einen wurde der geplante Stichprobenumfang für die vorliegende Studie nicht erreicht. In der Studienplanung waren jeweils 42 Patienten in Kontroll- und Interventionsgruppe vorgesehen, während letztendlich nur 33 Patienten pro Gruppe die Untersuchung beendet haben. Die Power der Studie muss daher als in kleinem Maße zu gering betrachtet werden, was möglicherweise Einfluss auf die Ergebnisse und die nicht vorliegenden Unterschiede genommen hat. Zum anderen sind die Ergebnisse im Hinblick auf die beiden Strata Neck-Dissection und Ösophagusresektion kritisch zu bewerten. Da sich die Operationen in Hinblick auf Invasivität, Eingriffsdauer und beschriebener Rate an Komplikationen [9, 12] deutlich unterscheiden, sind die erhobenen Daten (unter Einbeziehung der Patientendaten beider Strata) möglicherweise weniger aussagekräftig. Aus den gleichen Gründen resultiert auch eine erschwerte Vergleichbarkeit beider Strata. Die Hypothesen der vorliegenden Arbeit müssten also in einer Folgestudie mit größeren Patientenzahlen, möglicherweise auch mit verändertem Studiendesign im Sinne der Art des chirurgischen Eingriffs und der Anzahl der Vakzinierungen erneut geprüft werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die der vorliegenden Studie zugrunde liegenden Hypothesen nicht bestätigt werden konnten. Es konnte nicht gezeigt werden, dass eine präoperative Impfung mit Influenzavakzine bei Patienten mit einem malignen Tumor des oberen Aerodigestivtraktes die monozytäre HLA-DR-Expression fördert. Eine Reduzierung der postoperativen Infektionsrate oder eine Verkürzung der Liegedauer auf der Intensivstation bzw. der Beatmungszeiten konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Im Gegenteil resultierte

die Impfung in einer erhöhten kumulativen Inzidenz von Infektionen nach dem 5. postoperativen Tag.

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Ergebnisse in den beiden Strata Ösophagusresektion und Neck-Dissection in Bezug auf die monozytäre HLA-DR-Expression, PCT-Level, Beatmungs- und Intensivverweildauer tendenziell unterscheiden. Ein signifikanter Einfluss der Art der chirurgischen Intervention auf die monozytäre HLA-DR-Expression konnte nachgewiesen werden.

A. Literaturverzeichnis

- [1] STABENOW, R., H. WILSDORF-KÖHLER, A. NEUMEYER-GROMEN und B. STRELLER (HRSG.): *Krebsinzidenz und Krebsmortalität 2007-2008 (Jahresbericht)*. Gemeinsames Krebsregister der Länder Berlin, Brandenburg, MecklenburgVorpommern, SachsenAnhalt und der Freistaaten Sachsen und Thüringen (GKR), Berlin, 2012.
- [2] STELOW, E. B., S. E. MILLS, V. Y. JO und D. L. CARLSON: *Adenocarcinoma of the upper aerodigestive tract*. *Advances in anatomic pathology*, 17(4):262–9, Juli 2010.
- [3] PRICE, K. und E. COHEN: *Current treatment options for metastatic head and neck cancer*. *Curr Treat Options Oncol*, 13(1):35–46, Mar 2012.
- [4] D’SOUZA, G., A. KREIMER, R. VISCIDI, M. PAWLITA, C. FAKHRY, W. KOCH, W. WESTRA und M. GILLISON: *Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer*. *N Engl J Med*, 356(19):1944–1956, May 2007.
- [5] GILLISON, M. L. und D. R. LOWY: *A causal role for human papillomavirus in head and neck cancer*. *Lancet*, 363(9420):1488–1489, May 2004.
- [6] STURGIS, E. M und P. M. CINCIRIPINI: *Trends in head and neck cancer incidence in relation to smoking prevalence: an emerging epidemic of human papillomavirus-associated cancers?* *Cancer*, 110(7):1429–1435, Oct 2007.
- [7] MAMELLE, G., J. PAMPURIK, B. LUBOINSKI, R. LANCAR, A. LUSINCHI und J. BOSQ: *Lymph node prognostic factors in head and neck squamous cell carcinomas*. *Am J Surg*, 168(5):494–498, Nov 1994.
- [8] FERLITO, A., A. RINALDO, K. O. DEVANEY, K. MACLENNAN, J. N. MYERS, G. J. PETRUZZELLI, A. R. SHAHA, E. M. GENDEN, J. T. JOHNSON, M. B. DE CARVALHO und E. N. MYERS: *Prognostic significance of microscopic and macroscopic extracapsular spread from metastatic tumor in the cervical lymph nodes*. *Oral Oncol*, 38(8):747–751, Dec 2002.
- [9] SIMON, D., M. LASSAU, P. SCHMIDT-WILCKE und M. BOUCHER: *Intraoperative complications of neck surgery*. *Chirurg*, 83(7):626–632, Jul 2012.
- [10] EUFINGER, H. und J. LEHMBROCK: *Life threatening and fatal complications of radical neck dissection*. *Mund Kiefer Gesichtschir*, 5(3):193–197, May 2001.
- [11] OTT, K., L. SISIC und M. BÜCHLER: *Squamous cell carcinoma of the esophagus*. *Der Chirurg; Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizen*, 82(11):974–80, November 2011.
- [12] LÖHLEIN, D. und H. R. NÜRNBERGER: *Management von chirurgischen Komplikationen nach Ösophagektomie*. *Viszeralchirurgie*, 41:268–76, 2006.
- [13] BARTELS, H.: *Postoperative complications—what is often? What is rare?.* Kongressband / Deutsche Gesellschaft für Chirurgie. Deutsche Gesellschaft für Chirurgie. Kongress, 118:332–5, Januar 2001.

- [14] IMDAHL, A., T. MUNZAR, J. SCHULTE-MÖNTING, K. D. RÜCKAUER, R. KIRCHNER und E. H. FARTHMAN: *Perioperative risk factors in esophageal cancer: a retrospective study of independent variables*. Zentralblatt für Chirurgie, 118(4):190–6, Januar 1993.
- [15] MILLER, J. D., M. K. JAIN, C. J. DE GARA, D. MORGAN und J. D. URSCHEL: *Effect of surgical experience on results of esophagectomy for esophageal carcinoma*. Journal of surgical oncology, 65(1):20–1, Mai 1997.
- [16] PATTI, M. G., C. U. CORVERA, R. E. GLASGOW, and L. W. WAY: *A hospital's annual rate of esophagectomy influences the operative mortality rate*. J Gastrointest Surg, 2(2):186–192, 1998.
- [17] SEITZ, H. K., F. STICKEL, and N. HOMANN: *Pathogenetic mechanisms of upper aerodigestive tract cancer in alcoholics*. International journal of cancer. Journal international du cancer, 108(4):483–7, February 2004.
- [18] MARTIN, M. J., C. HEYMAN, T. NEUMANN, L. SCHMIDT, F. SOOST, B. MAZUREK, B. BÖHM, C. MARKS, K. HELLING, E. LENZENHUBER, C. MÜLLER, W. J. KOX, and C. D. SPIES: *Preoperative evaluation of chronic alcoholics assessed for surgery of the upper digestive tract*. Alcoholism, clinical and experimental research, 26(6):836–40, June 2002.
- [19] BAAN, R., K. STRAIF, Y. GROSSE, B. SECRETAN, F. EL GHISASSI, V. BOUVARD, A. ALTIERI, and V. COGLIANO: *Carcinogenicity of alcoholic beverages*. The lancet oncology, 8(4):292–3, April 2007.
- [20] BAGNARDI, V., M. BLANGIARDO, C. LA VECCHIA, and G. CORRAO: *A meta-analysis of alcohol drinking and cancer risk*. British journal of cancer, 85(11):1700–5, November 2001.
- [21] CHO, E., S. A. SMITH-WARNER, J. RITZ, P. A. VAN DEN BRANDT, G. A. COLDITZ, A. R. FOLSOM, J. L. FREUDENHEIM, E. GIOVANNUCCI, R. A. GOLDBOHN, S. GRAHAM, L. HOLMBERG, D.-H. KIM, N. MALILA, A. B. MILLER, P. PIETINEN, T. E. ROHAN, T. A. SELLERS, F. E. SPEIZER, W. C. WILLETT, A. WOLK, and D. J. HUNTER: *Alcohol intake and colorectal cancer: a pooled analysis of 8 cohort studies*. Ann Intern Med, 140(8):603–613, Apr 2004.
- [22] HAMAJIMA, N., K. HIROSE, K. TAJIMA, T. ROHAN, and E. E. CALLE: *Alcohol, tobacco and breast cancer—collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease*. British journal of cancer, 87(11):1234–45, November 2002.
- [23] SPIES, C. D., H. T, S. ANDREASSON, A. HELANDER, and K. CONIGRAVE: *Perioperative morbidity and mortality in chronic alcoholic patients*. Alcoholism, clinical and experimental research, 25(5 Suppl ISBRA):164S–170S, May 2001.
- [24] LAU, A., V. VON DOSSOW, M. SANDER, M. MACGUILL, N. LANZKE, and C. D. SPIES: *Alcohol use disorder and perioperative immune dysfunction*. Anesthesia and analgesia, 108(3):916–20, March 2009.

- [25] TONNESEN, H. and H. KEHLET: *Preoperative alcoholism and postoperative morbidity*. The British journal of surgery, 86(7):869–74, July 1999.
- [26] STARKENBURG, S., M. E. MUNROE, and C. WALTENBAUGH: *Early alteration in leukocyte populations and Th1/Th2 function in ethanol-consuming mice*. Alcoholism, clinical and experimental research, 25(8):1221–30, August 2001.
- [27] MESSINGHAM, K., D. E. FAUNCE, and E. J. KOVACS: *Alcohol, injury, and cellular immunity*. Alcohol (Fayetteville, N.Y.), 28(3):137–49, November 2002.
- [28] VON DOSSOW, V., C. SCHILLING, S. BELLER, O. V. HEIN, C. VON HEYMANN, W. J. KOX, and C. D. SPIES: *Altered immune parameters in chronic alcoholic patients at the onset of infection and of septic shock*. Critical care (London, England), 8(5):R312–21, October 2004.
- [29] SANDER, M., M. IRWIN, P. SINHA, E. NAUMANN, W. J. KOX, and C. D. SPIES: *Suppression of interleukin-6 to interleukin-10 ratio in chronic alcoholics: association with postoperative infections*. Intensive care medicine, 28(3):285–92, March 2002.
- [30] SZABO, G., D. CATALANO, B. WHITE, and P. MANDREKAR: *Acute Alcohol Consumption Inhibits Accessory Cell Function of Monocytes and Dendritic Cells*. Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 28(5):824–828, May 2004.
- [31] SPIES, C. D., V. VON DOSSOW, V. EGGERS, G. JETSCHMANN, R. EL-HILALI, J. EGERT, M. FISCHER, T. SCHRÖDER, C. HÖFLICH, P. SINHA, C. PASCHEN, P. MIRSALIM, R. BRUNSCH, J. HOPF, C. MARKS, K.-D. WERNECKE, F. PRAGST, H. EHRENREICH, C. MÜLLER, H. TONNESEN, W. OELKERS, W. ROHDE, C. STEIN, and W. J. KOX: *Altered cell-mediated immunity and increased postoperative infection rate in long-term alcoholic patients*. Anesthesiology, 100(5):1088–100, May 2004.
- [32] WALTENBAUGH, C., K. VASQUEZ and J. D. PETERSON: *Alcohol consumption alters antigen-specific Th1 responses: mechanisms of deficit and repair*. Alcohol Clin Exp Res, 22(5 Suppl):220S–223S, Aug 1998.
- [33] ZISMAN, D. A., R. M. STRIETER, S. L. KUNKEL, W. C. TSAI, J. M. WILKOWSKI, K. A. BUCKNELL and T. J. STANDIFORD: *Ethanol feeding impairs innate immunity and alters the expression of Th1- and Th2-phenotype cytokines in murine Klebsiella pneumonia*. Alcohol Clin Exp Res, 22(3):621–627, May 1998.
- [34] SWEENEY, K. J., M. R. KELL, N. RAVI and J. V. REYNOLDS: *Major upper gastrointestinal surgery is associated with an antigen-dependent proinflammatory T cell response*. The British journal of surgery, 92(8):989–95, August 2005.
- [35] SHIMAOKA, M., K. HOSOTSUBO, M. SUGIMOTO, G. SAKAUE, N. TAENAKA, I. YOSHIYA and H. KIYONO: *The influence of surgical stress on T cells: enhancement of early phase lymphocyte activation*. Anesthesia and analgesia, 87(6):1431–5, December 1998.
- [36] HEINZ, R. and C. WALTENBAUGH: *Ethanol consumption modifies dendritic cell antigen presentation in mice*. Alcoholism, clinical and experimental research, 31(10):1759–71, October 2007.

- [37] ALOMAN, C. AND GEHRING, S., P. WINTERMEYER, N. KUZUSHITA and J. R. WANDS: *Chronic ethanol consumption impairs cellular immune responses against HCV NS5 protein due to dendritic cell dysfunction*. Gastroenterology, 132(2):698–708, February 2007.
- [38] COOK, R. T.: *Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system—a review*. Alcoholism, clinical and experimental research, 22(9):1927–42, December 1998.
- [39] SCHINKEL, C., R. SENDTNER, S. ZIMMER and E. FAIST: *Functional analysis of monocyte subsets in surgical sepsis*. The Journal of trauma, 44(5):743–8; discussion 748–9, May 1998.
- [40] ANGELE, M. K and E. FAIST: *Clinical review: immunodepression in the surgical patient and increased susceptibility to infection*. Critical care (London, England), 6(4):298–305, August 2002.
- [41] OGAWA, K., M. HIRAI, T. KATSUBE, M. MURAYAMA, K. HAMAGUCHI, T. SHIMAKAWA, Y. NARITAKE, T. HOSOKAWA and T. KAJIWARA: *Suppression of cellular immunity by surgical stress*. Surgery, 127(3):329–36, March 2000.
- [42] HAUPT, W., J. RIESE, C. MEHLER, K. WEBER, M. ZOWE and W. HOHENBERGER: *Monocyte function before and after surgical trauma*. Digestive surgery, 15(2):102–4, January 1998.
- [43] FRANKE, A., W. LANTE, E. KOLLIG and A. MARKEWITZ: *A comparison of monocyte counts and ex vivo and in vitro monocyte cytokine production after major surgical trauma*. The Journal of surgical research, 154(1):91–98, 2009.
- [44] VOLK, H.-D, P. REINKE and W.-D. DÖCKE: *Clinical aspects: from systemic inflammation to 'immunoparalysis'*. Chemical Immunology, 74:162–177, 2000.
- [45] REITH, W., S. LEIBUNDGUT-LANDMANN and J.-M. WALDBURGER: *Regulation of MHC class II gene expression by the class II transactivator*. Nature Reviews Immunology, 5(10):793–806, 2005.
- [46] DÖCKE, W.-D., C. HÖFLICH, K. DAVIS, K. RÖTTGERS, C. MEISEL, P. KIEFER, S. U. WEBER, M. HEDWIG-GEISSING, E. KREUZFELDER, P. TSCHENTSCHER, T. NEBE, A. ENGEL, G. MONNERET, A. SPITTLER, K. SCHMOLKE, P. REINKE, H.-D. VOLK and D. KUNZ: *Monitoring temporary immunodepression by flow cytometric measurement of monocytic HLA-DR expression: a multicenter standardized study*. Clinical chemistry, 51(12):2341–7, December 2005.
- [47] MONNERET, G., A. LEPAPE, N. VOIRIN, J. BOHÉ, F. VENET, A.-L. DEBARD, H. THIZY, J. BIENVENU, F. GUEYFFIER and P. VANHEMS: *Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock*. Intensive Care Medicine, 32(8):1175–1183, 2006.
- [48] SCHEFOLD, J. C., D. HASPER, H.-D. VOLK and P. REINKE: *Sepsis: time has come to focus on the later stages*. Medical Hypotheses, 71(2):203–208, 2008.
- [49] HÖFLICH, C. and H. D. VOLK: *Immunomodulation in sepsis*. Der Chirurg Zeitschrift für alle Gebiete der operativen Medizin, 73(11):1100–1104, 2002.

- [50] SÁENZ, J. J., J. J. IZURA, A. MANRIQUE, F. SALA and I. GAMINDE: *Early prognosis in severe sepsis via analyzing the monocyte immunophenotype*. Intensive Care Medicine, 27(6):970–977, 2001.
- [51] SPIES, C. D., M. KIP, A. LAU, M. SANDER, J. P. BREUER, J. MEYERHOEFER, C. PASCHEN, G. SCHUMACHER, H.-D. VOLK, K.-D. WERNECKE and V. VON DOS-SOW: *Influence of vaccination and surgery on HLA-DR expression in patients with upper aerodigestive tract cancer*. The Journal of international medical research, 36(2):296–307, 2008.
- [52] HAINING, W. N., J.W. EVANS, N. P. SETH, G. D. CALLAWAY, K. W. WUCHERPFEN-NIG, L. M. NADLER and E. C. GUINAN: *Measuring T cell immunity to influenza vac-cination in children after haemopoietic stem cell transplantation*. British journal of haematology, 127(3):322–5, November 2004.
- [53] WORKU, S., G. J. GORSE, R. B. BELSHE and D. F. HOFT: *Canarypox vaccines induce antigen-specific human gammadelta T cells capable of interferon-gamma produc-tion*. Technical Report 5, Division of Infectious Diseases and Immunology, Department of Internal Medicine, Saint Louis University Health Sciences Center, St. Louis, Missouri, USA. shewangizawwo@hotmail.com, 2001.
- [54] NEAR, K. A., A. W. STOWERS, D. JANKOVIC and D. C. KASLOW: *Improved im-munogenicity and efficacy of the recombinant 19-kilodalton merozoite surface protein 1 by the addition of oligodeoxynucleotide and aluminum hydroxide gel in a murine malaria vaccine model*. Infect Immun, 70(2):692–701, Feb 2002.
- [55] GORSE, G. J., G. B. PATEL, M. MANDAVA, P. W. BERMAN and R. B. BELSHE: *MN and IIIB recombinant glycoprotein 120 vaccine-induced binding antibodies to native en-velope glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 primary isolates*. National Institute of Allergy and Infectious Disease Aids Vaccine Evaluation Group. AIDS Res Hum Retroviruses, 15(10):921–930, Jul 1999.
- [56] ULLMANN, A. J., M. KARTHAUS and O. A. CORNELY: *Vaccination of the immuno-compromised host*. Wien Med Wochenschr, 154(9-10):218–225, May 2004.
- [57] AVETISYAN, G., E. RAGNAVÖLGYI, G. T. TOTH, M. HASSAN and P. LJUNGMAN: *Cell-mediated immune responses to influenza vaccination in healthy volunteers and al-logeneic stem cell transplant recipients*. Bone Marrow Transplantation, 36(5):411–415, 2005.
- [58] MAK, P. H., R. C. CAMPBELL, M. G. IRWIN and AMERICAN SOCIETY OF ANES-THESIOLOGISTS: *The ASA Physical Status Classification: inter-observer consistency*. American Society of Anesthesiologists. Anaesth Intensive Care, 30(5):633–640, Oct 2002.
- [59] PUGH, R. N., I. M. MURRAY-LYON, J. L. DAWSON, M. C. PIETRONI and R. WILLIAMS: *Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices*. Br J Surg, 60(8):646–649, Aug 1973.

- [60] VON DOSSOW, V., S. BAUR, M. SANDER, H. T. C. MARKS, C. PASCHEN, G. BERGER and C. D. SPIES: *Propofol increased the interleukin-6 to interleukin-10 ratio more than isoflurane after surgery in long-term alcoholic patients*. The Journal of international medical research, 35(3):395–405, 2007.
- [61] SPIES, C. D., V. EGGERS, G. SZABO, A. LAU, V. VON DOSSOW, H. SCHOENFELD, H. ALTHOFF, K. HEGENSCHIED, B. BOHM, T. SCHROEDER, S. PFEIFFER, S. ZIEMER, C. PASCHEN, M. KLEIN, C. MARKS, P. MILLER, M. SANDER, K.-D. WERNECKE, E. ACHTERBERG, U. KAISERS and H.-D. VOLK: *Intervention at the level of the neuroendocrine-immune axis and postoperative pneumonia rate in long-term alcoholics*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 174(4):408–414, 2006.
- [62] MAYFIELD, D., G. MCLEOD and P. HALL: *The CAGE questionnaire: validation of a new alcoholism screening instrument*. Am J Psychiatry, 131(10):1121–1123, Oct 1974.
- [63] SAUNDERS, J. B., O. G. AASLAND, T. F. BABOR, J. R. DE LA FUENTE and M. GRANT: *Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO Collaborative Project on Early Detection of Persons with Harmful Alcohol Consumption–II*. Addiction, 88(6):791–804, Jun 1993.
- [64] KOX, W. J., C. D. SPIES, M. KASTRUP and K. ARDEN (HRSG.): *Check-up Anästhesiologie : Standards Anästhesie - Intensivmedizin - Schmerztherapie - Notfallmedizin, 2., erw. und aktualisierte Auflage*. Springer, Heidelberg, 2005. Seiten 56 - 57 und Seiten 216 - 218.
- [65] GARNER, J. S., W. R. JARVIS, T. G. EMORI, T. C. HORAN and J. M. HUGHES: *CDC definitions for nosocomial infections, 1988*. Zeitschrift für ärztliche Fortbildung, 139(4):818–827, 1991.
- [66] BONE, R. C.: *Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine*. CHEST Journal, 101(6):1644, June 1992.
- [67] LEVY, M. M., M. P. FINK, J. C. MARSHALL, E. ABRAHAM, D. ANGUS, D. COOK, J. COHEN, S. M. OPAL, J. L. VINCENT and G. RAMSAY: *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Crit Care Med, 31(4):1250–6, 2003.
- [68] VEENHOF, A. A., C. SIETSES, B. M. VON BLOMBERG, I. M. VAN HOOGSTRATEN, M. H. VD PAS, W. J. MEIJERINK, D. L. VD PEET, M. P. VD TOL, H. J. BONJER and M. A. CUESTA: *The surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopic or conventional total mesorectal excision in rectal cancer: a randomized trial*. International journal of colorectal disease, 26(1):53–9, January 2011.
- [69] WANG, GANG, ZHIWEI JIANG, KUN ZHAO, GUOLI LI, FENGTAO LIU, HUAFENG PAN and JIESHOU LI: *Immunologic response after laparoscopic colon cancer operation within an enhanced recovery program*. J Gastrointest Surg, 16(7):1379–1388, Jul 2012.

- [70] FLOHÉ, SASCHA, SVEN LENDEMANS, FRITZ-ULRICH SCHADE, ERNST KREUZFELDER and CHRISTIAN WAYDHAS: *Influence of surgical intervention in the immune response of severely injured patients*. Intensive Care Med, 30(1):96–102, Jan 2004.
- [71] BAUER, M.: *Anesthesia and perioperative immune function. Remarks on the work of M. Bauer, H. Rensing and T. Ziegenfuss (Anaesthesist 1998,47:538-556)*. Anaesthesist, 47(11):939, Nov 1998.
- [72] HOLVAST, A., S. VAN ASSEN, A. DE HAAN, A. HUCKRIEDE, C. A. BENNE, J. WESTRA, A. PALACHE, J. WILSCHUT, C. KALLENBERG and M. BIJL: *Studies of cell-mediated immune responses to influenza vaccination in systemic lupus erythematosus*. Arthritis and rheumatism, 60(8):2438–47, August 2009.
- [73] AVETISYAN, G., J. ASCHAN, M. HASSAN and P. LJUNGMAN: *Evaluation of immune responses to seasonal influenza vaccination in healthy volunteers and in patients after stem cell transplantation*. Transplantation, 86(2):257–63, July 2008.
- [74] HERSHMAN, M. J., W. G. CHEADLE, S. R. WELLHAUSEN, P. F. DAVIDSON and H. C. POLK: *Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient*. Br J Surg, 77(2):204–207, Feb 1990.
- [75] CHÉRON, A., G. MONNERET, C. LANDELLE, B. FLOCCARD and B. ALLAOUCHICHE: *Low monocytic HLA-DR expression and risk of secondary infection*. Ann Fr Anesth Reanim, 29(5):368–376, May 2010.
- [76] CHEADLE, W. G.: *The human leukocyte antigens and their relationship to infection*. Am J Surg, 165(2A Suppl):75S–81S, Feb 1993.
- [77] ALLEN, M. L., M. J. PETERS, A. GOLDMAN, M. ELLIOTT, I. JAMES, R. CALLARD and N. J. KLEIN: *Early postoperative monocyte deactivation predicts systemic inflammation and prolonged stay in pediatric cardiac intensive care*. Critical care medicine, 30(5):1140–5, May 2002.
- [78] GESSLER, P., R. PRETRE, C. BÜRKI, V. ROUSSON, B. FREY and D. NADAL: *Monocyte function-associated antigen expression during and after pediatric cardiac surgery*. J Thorac Cardiovasc Surg, 130(1):54–60, Jul 2005.
- [79] OCZENSKI, W., H. KRENN, R. JILCH, H. WATZKA, F. WALDENBERGER, U. KÖLLER, S. SCHWARZ and R. D. FITZGERALD: *HLA-DR as a marker for increased risk for systemic inflammation and septic complications after cardiac surgery*. Intensive care medicine, 29(8):1253–7, August 2003.
- [80] VENET, F., A. LEPAPE and G. MONNERET: *Clinical review: flow cytometry perspectives in the ICU - from diagnosis of infection to monitoring of injury-induced immune dysfunctions*. Crit Care, 15(5):231, 2011.
- [81] REITH, H. B., U. MITTELKÖTTER, E. S. DEBUS, C. KÜSSNER and A. THIEDE: *Procalcitonin in early detection of postoperative complications*. Dig Surg, 15(3):260–265, 1998.

- [82] HUNZIKER, S., T. HÜGLE, K. SCHUCHARDT, I. GROESCHL, P. SCHUETZ, B. MUELLER, W. DICK, U. ERIKSSON and A. TRAMPUZ: *The value of serum procalcitonin level for differentiation of infectious from noninfectious causes of fever after orthopaedic surgery.* J Bone Joint Surg Am, 92(1):138–148, Jan 2010.
- [83] OBERHOFER, D., J. JURAS, A. M. PAVICIC, I. RANCIC ZURIC and V. RUMENJAK: *Comparison of C-reactive protein and procalcitonin as predictors of postoperative infectious complications after elective colorectal surgery.* Croat Med J, 53(6):612–619, Dec 2012.
- [84] SCHUETZ, P., W. ALBRICH and B. MUELLER: *Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future.* BMC Med, 9:107, 2011.
- [85] SANOFI PASTEUR MSD: *Fachinformation Mutagrip 2010/2011.* 2010.
- [86] BECK, C. R., B. C. MCKENZIE, A. B. HASHIM, R. C. HARRIS, UNIVERSITY OF NOTTINGHAM INFLUENZA AND THE IMMUNOCOMPROMISED (UNIIC) STUDY GROUP and J. S. NGUYEN-VAN-TAM: *Influenza vaccination for immunocompromised patients: systematic review and meta-analysis by etiology.* J Infect Dis, 206(8):1250–1259, Oct 2012.
- [87] INTERNATIONAL COMMITTEE OF MEDICAL JOURNAL EDITORS: *Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: Writing and editing for biomedical publication.* J Pharmacol Pharmacother, 1(1):42–58, Jan 2010.

B. Abbildungsverzeichnis

1.	Monozytäre HLA-DR-Expression nach Impfung	11
2.	Studieninterventionsschema	15
3.	Studieneinschlussdiagramm	21
4.	Monozytäre HLA-DR-Expression	23
5.	Monozytäre HLA-DR-Expression nach Subgruppen	26
6.	Kumulative Inzidenz von postoperativen Infektionen	27
7.	Verlauf der Infektionsparameter	29

C. Tabellenverzeichnis

1.	Sepsis - Definitionen der <i>ACCP/SCCM Consensus Conferences</i> 1991/2001 .	17
2.	Patientencharakteristika bei Studienbeginn	22
3.	HLA-DR-Expression: Ergebnisse der Kovarianzanalyse	25
4.	Klinische Kennzahlen	30
5.	Anzahl und Häufigkeiten von AE und SAE	32

D. Abkürzungsverzeichnis

ACCP/SCCM	American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine
AE	Adverse Event
aHT	arterielle Hypertonie
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASA	American Society of Anesthesiologists
AST	Aspartat-Aminotransferase
AT	Antithrombin
AUD	Alcohol Use Disorder
AUDIT	Alcohol Use Disorders Identification Test
BE	Blutentnahme
BMI	Body Mass Index
bzw.	beziehungsweise
CAGE	CAGE-Test (Cut down, Annoying, Guilty, Eye opener)
CD	Cluster of Differentiation
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CDT	Carbohydrate Deficient Transferrin
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CRP	C-reaktives Protein
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
et al.	et alii
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GKR	Gemeinsames Krebsregister
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HLA-DR	Human Leukocyte Antigen-DR
HPV	Humane Papillomaviren
ICMJE	International Committee of Medical Journal Editors
ICU	Intensive Care Unit (Intensivstation)
IFN	Interferon
IL	Interleukin
INR	International Normalized Ratio
KHK	Koronare Herzkrankheit
M.	Musculus
MHC	Major Histocompatibility Complex
n	Anzahl
NUD	Nicotine Use Disorder
NVG	nicht Vakzinierungsgruppe
OP	Operation
PaCO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PCT	Procalcitonin
POD	postoperativer Tag
pTT	partielle Thromboplastinzeit
SAE	Serious Adverse Event

D. Abkürzungsverzeichnis

SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SLE	Systemischer Lupus erythematoses
SOP	Standard Operating Procedure
Th-Zelle	T-Helfer-Zelle
TIVA	Total Intravenöse Anästhesie
TM	Trademark
TNF	Tumor-Nekrosefaktor
TOV	Time On Ventilator
TPZ	Thromboplastinzeit
VG	Vakzinierungsgruppe
z.B.	zum Beispiel

E. Dokumente

E.1. Genehmigung der Ethikkommission



Charité | 10117 Berlin
Frau Prof. Dr. med. C. Spies
Anästhesiologie

Ethikkommission
Ethikausschuss 1 am Campus Charité - Mitte

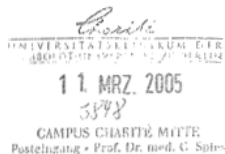
Vorsitzender: Prof. Dr. R. Uebelhack

Geschäftsführer: v. Dewitz/Orzechowski
ethikkommission@charite.de

Korrespondenzadresse: Schumannstr. 20/21, 10117 Berlin
Tel.: 030/450-517222
Fax: 030/450-517952

www.charite.de/ethikkommission

CCM



Datum: 09.03.2005

Einfluss der präoperativen Vakzinierung auf das Immunsystem und die postoperative Infektionsrate

EudraCT Nr. 2004-004352-40

Antragsnummer: EA 1/048/04

Sehr geehrte Frau Professor Spies,

hiermit wird bestätigt, dass der Ethikausschuss 1 am Campus Charité - Mitte über das o.g. Vorhaben in seiner am 03.03.2005 durchgeführten Sitzung beraten hat.

Die Ethikkommission stimmt dem o.g. Vorhaben unter der Auflage zu, dass die Randomisierungsliste und die Notfallkuverts bei einer biometrischen Einrichtung geführt werden.

Nach diesseitiger Bestätigung der Erfüllung vorstehender Auflage durch Vorlage eines entsprechend ergänzten Protokolls, kann mit der o.g. Studie begonnen werden.

Begründung:

- Die Unterlagen und Angaben sind § 7 Abs. 2 und 3 GCP-V vollständig eingereicht, vgl. § 42 Abs. 1 Nr. 1 AMG n.F.
- Die Unterlagen einschließlich des Prüfplans, der Prüferinformation und der Modalitäten für die Auswahl der Prüfungsteilnehmer dem Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse entsprechen, insbesondere die Klinische Prüfung geeignet ist, den Nachweis der Unbedenklichkeit oder Wirksamkeit eines Arzneimittels einschließlich einer unterschiedlichen Wirkungsweise bei Frauen und Männern zu erbringen, vgl. § 42 Abs. 1 Nr. 2 AMG n.F.
- Die Aufklärung der Studienteilnehmer ist rechtmäßig und angemessen, vgl. § 42 Abs. 1 Nr. 3 AMG n.F. i.V.m. § 40 Abs. 1 Nr. 3 b) und c), Abs. 2 a) AMG n.F.
- Es liegt eine Versicherung der Studienteilnehmer mit einem angemessenem Umfang vor, § 42 Abs. 1 Nr. 3 AMG n.F. i.V.m. § 40 Abs. 1 Nr. 8, Abs. 3 AMG n.F.

E. Dokumente

- 2 -

- Der Nutzen für die Allgemeinheit und ggf. den Prüfungsteilnehmer überwiegt die Risiken für diesen, § 42 Abs. 1 Nr. 3 AMG n.F. i.V.m. § 40 Abs. 1 Nr. 2 AMG i.V.m. Art. 3 Abs. 2 a) der Richtlinie 2001/20/EG.
- Relevanz der Klinischen Prüfung für die Entwicklung der Heilkunde, Art. 6 Abs. 3 a) der Richtlinie 2001/20/EG. Eine derartige Studie wurde auf dem hier in Rede stehenden Indikationsgebiet bislang nicht durchgeführt.
- Die Prüferin (Prof. C. Spies) und ihre Mitarbeiter sowie die Einrichtung (Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité – Mitte, Klinik f. Anästhesiologie) sind geeignet, die o.g. Studie durchzuführen, § 42 Abs. 1 Nr. 3 AMG n.F. i.V.m. § 40 Abs. 1 Nr. 5 AMG n.F.
- Der Schutz der personenbezogenen Daten der Studienteilnehmer gem. der Richtlinie 1995/46/EG ist gewährleistet, vgl. § 40 Abs. 2 a) AMG n.F.

Nachfolgend aufgeführte Mitglieder haben über das o.g. Vorhaben beraten:

Frau Dr. I. Mai	Klinische Pharmakologie
Frau Dr. Gorynia	Psychiatrie
Frau Oppermann	Pflege
Herr Prof. Wernecke	Biometrie
Herr Prof. Harnack	Dermatologie
Herr Dr. Krausch	Anästhesiologie

Nachfolgend aufgeführte Unterlagen waren Gegenstand der Beratung:

- Impfausweis
- Antragstext vom 21.09.04, EudraCT Nr. 2004-004352-40
- Prüfplan vom 29.10.04, Code 1, Version 1
- Prüferinformation vom 27.10.04
- Patienteninformation 29.10.04 und –einwilligung 21.10.04
- Schreiben zur Vorlage beim behandelnden Hausarzt oder Hausärztin vom 21.10.04
- Dokumentation undatiert
- Bestätigungsschreiben EudraCT-Nummer vom 18.11.04
- Fachinformation Juli 2004
- Lebenslauf Prof. Spies nicht unterzeichnet
- Lebenslauf Frau Alexandra Lau vom 18.11.04 nicht unterzeichnet
- Angaben zur Qualifikation des Prüfzentrums vom 18.11.04
- Kalkulierte Kosten pro Patient vom 21.11.04
- Schreiben von Frau Brune vom 25.11.04
- Versicherungsbescheinigung

Für Ihre Rückfragen stehen wir gern zur Verfügung.


Mit freundlichen Grüßen



OÄ in Dr. I. Mai
Stellvertretende Vorsitzende

Z:\Scvd\EA1_048_04 Spies

E.2. Patienteninformation



CharitéCentrum für Anästhesiologie, OP-Management und Intensivmedizin


Charité - Universitätsmedizin Berlin | D - 13344 Berlin

**Universitätsklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin**

Klinikdirektorin:
Univ.-Prof. Dr. C. Spies

Campus Virchow-Klinikum
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin
Tel: +49 30 450 551001/02
Fax: +49 30 450 551909
e-mail: anaesthesie-virchow-klinikum@charite.de

Campus Charité Mitte
Charitéplatz 1
10117 Berlin
Tel: +49 30 450 531012/52
Fax: +49 30 450 531911
e-mail: anaesth@charite.de
Web: <http://www.charite.de/ch/anaest/>



Patienteninformation

EudraCT-Nr.: 2004-004352-49

Kurztitel: ART V

Studientitel:

„Einfluss der präoperativen Vakzinierung auf das Immunsystem und die postoperative Infektionsrate.“

- Eine randomisierte, Zarmige, placebokontrollierte, doppelblinde Pilotstudie -

Sponsor der klinischen Prüfung:
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin

Vertreter des Sponsors und Leiter der klinischen Prüfung:
Prof. Dr. med. Claudia Spies

CHARITÉ - UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
Gliederkörperschaften der Freien Universität Berlin und Humboldt-Universität zu Berlin

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Ihnen ist vorgeschlagen worden, an der oben genannten Untersuchung teilzunehmen. Sie sind in die Charité aufgenommen worden, weil bei Ihnen eine Operation geplant ist. Sowohl der Stress der Operation als auch Ihre Erkrankung bewirken Veränderungen in Ihrem Abwehrsystem. Die Zellen dieses Abwehrsystems sind in ihrer Funktion eingeschränkt. Im Anschluss an solche großen Operationen treten häufiger Infektionen auf. Durch eine Impfung mit einem Grippe-Impfstoff könnte die Funktion Ihres Abwehrsystems wieder verbessert werden. Wir wollen überprüfen, ob bei Ihnen durch eine Impfung bei Verdacht auf einen gut- oder bösartigen Tumor vor der Operation eine Verbesserung des Abwehrstatus und damit eine Verminderung der Infektionsrate erreicht werden kann.

Ziel der Untersuchung:

In unserer Untersuchung werden wir prüfen, ob sich Ihr körpereigenes Abwehrsystem nach der Impfung mit dem Grippe-Impfstoff verbessert. Es wird untersucht, ob Infektionen nach großer Operation, die Ihnen möglicherweise bevorsteht, verhindert werden können. Diese Impfung wird bei Erwachsenen mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen unter anderem bei angeborener, erworbener oder therapiebedingter Immunschwäche empfohlen.

Die Anwendung dieses Impfstoffes erfolgt bisweilen routinemäßig zur Vorbeugung der echten Virusgrippe (Influenza) und wird insbesondere bei Erwachsenen mit Grunderkrankung wie chronische Erkrankungen der Atemwege, des Herzens, der Niere, etc. empfohlen. Des Weiteren wird die Impfung für alle Personen ab dem 60. Lebensjahr empfohlen.

Die Zusammensetzung des Impfstoffes von Mutagrip entspricht den jeweils aktuellen Empfehlungen der WHO und der Europäischen Gemeinschaft. Eine Impfdosis entspricht 0,5 ml.

Ablauf der Untersuchung:

Sie werden zufällig einer der beiden Gruppen zugeteilt: Gruppe mit Impfung oder Kontrollgruppe (ohne Impfung). Wenn Sie der Gruppe mit Impfung zugeteilt werden, erhalten Sie insgesamt zwei Impfungen mit dem Grippe-Impfstoff. Die erste Impfung erhalten Sie am Morgen der stationären Aufnahme, einen Tag vor der großen Operation. Die zweite Impfung wird am Morgen der großen Operation durchgeführt. Um Ihr Abwehrsystem zu überprüfen, wird Ihnen Blut abgenommen. Dabei werden Ihnen jeweils ca. 20 ml Blut entnommen. Die erste Blutabnahme erfolgt vor der ersten Impfung, Am Morgen der großen Operation wird kurz vor der zweiten Impfung das zweite Mal Blut abgenommen. Sowohl einen Tag danach, als auch am dritten Tag danach erfolgen die dritte und vierte Blutabnahme.

Wurden Sie der Kontrollgruppe zugeteilt, dann erhalten Sie keine Impfungen. Die Blutabnahmen erfolgen aber gleichermaßen. Ein Tag vor der Operation die erste und am Morgen der Operation wird das zweite Mal Blut entnommen. Einen Tag danach und am dritten Tag nach der Operation wird ebenfalls Blut entnommen. Auch hier sind es jedes Mal ca. 20 ml.

Die Gesamtblutabnahmemenge beträgt ca. 80 ml (4x20 ml) über den Zeitraum von 5 Tagen (ein Tag präoperativ, am OP Tag, am ersten postoperativen und am dritten postoperativen Tag).

Die entnommenen Blutproben werden mit einem Zahlencode verschlüsselt und im zuständigen Labor der Immunologie, Campus Charité Mitte, weiterverarbeitet.

Ihnen wird jederzeit die erforderliche Standardtherapie garantiert.

Verhalten während der klinischen Untersuchung sowie in der Folgezeit:

Die folgenden Hinweise dienen dem Zweck die eigene Gesundheit, den Ablauf und das Ergebnis der klinischen Prüfung sowie den Versicherungsschutz nicht zu gefährden.

Sie werden ausschließlich unter Erklärung Ihres Einverständnisses in diese Studie eingeschlossen.

Sie dürfen nicht geimpft werden, wenn Sie auf den arzneilich wirksamen Bestandteil, auf eine andere, im Impfstoff enthaltene Substanz, auf Hühnereiproteine, Hühnerproteine, Neomycin oder Octoxinol 9 allergisch/überempfindlich reagieren. Bitte teilen Sie dem Studienarzt mit, wenn Sie an Allergien leiden oder gesundheitliche Probleme nach einer früheren Impfung auftraten.

Sie sollten dem Studienarzt mitteilen, wenn Sie an einer akuten behandlungsbedürftigen oder fieberhaften Erkrankung leiden oder sich in der Erholungsphase nach einer Krankheit befinden.

Risiken:

Der Impfstoff ist sehr gut verträglich. Nebenwirkungen der Schutzimpfung gegen Influenza (der Grippeerreger) sind sehr selten. Folgende Reaktionen treten am Häufigsten auf:

- Lokale Reaktionen wie Rötung, Schwellung, Schmerzen, kleinflächige Hautblutungen und Verhärtungen.
- Allgemeine (systemische) Unverträglichkeiten: Fieber, Übelkeit, Schüttelfrost, Müdigkeit, Kopfschmerz, Schwitzen, Muskel- und Gelenkschmerzen, Schwellung der Lymphknoten.

Diese Reaktionen verschwinden gewöhnlich nach 1-2 Tagen ohne Behandlung.

Die nachstehenden Reaktionen wurden selten beobachtet: Neuralgie (Nervenschmerz), Parästhesie (Sensibilitätsstörungen), Krämpfe, vorübergehende Thrombozytopenie (Verminderung der Anzahl der Blutplättchen) mit vereinzelt Blutungen oder Hämatomen (Blutergüsse).

Allergische Reaktionen: Fälle von Urtikaria (Nesselsucht), Pruritus (Juckreiz), erythematösem Ausschlag und Dyspnoe, die in seltenen Fällen bis zum Schock führen können, wurden beobachtet. Für den Fall einer seltenen bedrohlichen allergischen Reaktion nach der Impfung stehen geeignete Mittel zur Akutbehandlung bereit. Eine angemessene Überwachung wird durchgeführt.

Es wurden über seltene neurologische Störungen berichtet wie z.B. Enzephalomyelitis (Entzündung von Gehirn und Rückenmark), Neuritis (Nervenentzündung) und Guillain-Barré-Syndrom (aufsteigende Lähmung).

Dieser Impfstoff kann gleichzeitig mit anderen Impfstoffen an unterschiedlichen Körperstellen verabreicht werden. Bei gleichzeitiger Verabreichung kann es möglicherweise verstärkt zu Nebenwirkungen kommen.

Studienabbruch:

Sie haben jederzeit das Recht, Ihre Teilnahme an dieser Studie zu widerrufen. Dabei wird Ihnen jederzeit die nötige Standardtherapie garantiert.

Die Studie wird ebenfalls abgebrochen, wenn bei Ihnen aufgrund der Impfung schwere Krankheitserscheinungen auftreten (schwere allergische Reaktionen, schwere neurologische Reaktionen).

Wird bei Ihnen keine große Operation durchgeführt, wird die Studie ebenfalls gestoppt.

Nutzen:

Sie können erfahren, wie Ihr Körper auf eine Impfung gegen den Grippeerreger reagiert und ob dies von Normalwerten abweicht. Den Nutzen für den operativen Eingriff und mögliche Komplikationen nach der Operation können wir nicht vorhersagen, weil das Gegenstand der Untersuchung ist.

Es besteht aber die Möglichkeit, Hinweise für die Senkung der Infektionen nach einer Operation bei Ihrer zugrunde liegenden Tumorkrankheit, die gut- und bösartig sein kann, zu gewinnen.

Datenschutz:

Durch Ihre Unterschrift auf der Einwilligungserklärung erklären Sie sich damit einverstanden, dass der Studienarzt und seine Mitarbeiter Ihre personenbezogenen Daten zum Zweck der oben

E. Dokumente

genannten Arzneimittelprüfung erheben und weiterverarbeiten darf. Personenbezogene Daten sind z.B. Ihr Geburtsdatum, Ihr Geschlecht, Ihre Rasse oder ethnische Zugehörigkeit, Daten zu Ihrer physischen und psychischen Gesundheit oder andere persönliche Daten, die während Ihrer Teilnahme an der Studie oder bei einer anderen Folgeuntersuchung erhoben wurden.

Der Studienarzt wird Ihre personenbezogenen Daten für Zwecke der Verwaltung und Durchführung der Studie sowie für Zwecke der Forschung und statistischen Auswertung verwenden.

All Ihre persönlichen Daten, die sich beim Studienarzt befinden, können jedoch von der Zulassungsbehörde, der unabhängigen Ethikkommission oder anderen Überwachungsbehörden eingesehen werden. Zweck dieser Prüfung ist sicherzustellen, dass die Studie ordnungsgemäß durchgeführt wird und/oder die Qualität Ihrer studienbezogenen Daten gewährleistet wird.

Im Fall, dass unerwünschte Ereignisse aufgetreten sind, werden diese in pseudonymisierter Form an die zuständige Ethikkommission, die an der Studie beteiligten Studienärzte, an die zuständige Bundesbehörde sowie von dieser an die bei der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) geführten Europäischen Datenbank zur Registrierung von Arzneimittelprüfung (EudraCT) weitergegeben. Die zuständigen Bundesbehörden der Mitgliedsstaaten der Europäischen Union haben neben der Europäischen Arzneimittelagentur und der Europäischen Kommission Zugriff auf die in diese Datenbank eingegebenen Daten. Wenn Sie mit der Weitergabe nicht einverstanden sein sollten, können Sie an dieser Studie nicht teilnehmen.

Ihr Einverständnis zur Verarbeitung Ihrer studienbezogenen Daten ist zeitlich unbefristet und nicht widerrufbar.

Im Falle des Widerrufs Ihrer Einwilligung zur Studienteilnahme werden die bis dahin gespeicherten Daten weiterhin verwendet werden dürfen, soweit dies erforderlich ist, um

- a) Wirkung des zu prüfenden Arzneimittels festzustellen,
- b) Sicherzustellen, dass Ihre schutzwürdigen Interessen nicht beeinträchtigt werden,
- c) Der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungsunterlagen der zuständigen Bundesbehörde zu genügen.

In diesem Fall haben die verantwortlichen Stellen zu prüfen, inwieweit die gespeicherten Daten für die vorgenannten Zwecke (a-c)) noch erforderlich sein können. Nicht mehr benötigte Daten werden unverzüglich gelöscht.

Personenbezogene Daten werden nach gesetzlichen Aufbewahrungsfristen für die Zeit von 10 Jahren gespeichert.

Sie haben das Recht auf Auskunft über alle beim Studienarzt vorhandenen personenbezogenen Daten über Sie. Sie haben auch Anrecht auf Korrektur eventueller Ungenauigkeiten in Ihren personenbezogenen Daten. Wenn Sie eine Anfrage machen wollen, wenden Sie sich bitte an Ihren Studienarzt. Dieser wird Ihnen die Informationen über Ihre gespeicherten Daten zur Verfügung stellen. Die Adresse und Telefonnummer des Studienarztes finden Sie am Ende dieses Formblattes.

Bitte beachten Sie, dass die Ergebnisse der Studie in der medizinischen Fachliteratur veröffentlicht werden können, wobei Ihre Identität jedoch anonym bleibt.

Mit Ihrer Einwilligung stimmen Sie zugleich zu, dass Ihr Hausarzt / Ihre Hausärztin über die Teilnahme an dieser Studie informiert wird.

Die Ihnen im Rahmen der oben genannten Studie entnommenen Blutproben werden ebenfalls verschlüsselt und in dieser Form an das Labor der Immunologie, Charité Campus Mitte, zur dortigen Untersuchung zum Zweck der oben genannten Studie übermittelt.

Versicherung:

Nach den Bestimmungen des Arzneimittelgesetzes (§40, 41 AMG) muß für jeden Teilnehmer zum Ausgleich eines Vermögensschadens für Gesundheitsschädigungen einer klinischen Prüfung eine Versicherung abgeschlossen werden. Deshalb besteht für Sie Versicherungsschutz für den Fall einer Gesundheitsschädigung, die als Folge der Anwendung von Arzneimitteln oder von Maßnahmen an Ihrem Körper in Zusammenhang mit der Klinischen Prüfung entstanden sind. Der geplante operative Eingriff ist nicht Bestandteil des Versicherungsschutzes. Der Versicherungsschutz bezieht sich ausschließlich auf die beschriebene Untersuchung. Um diesen Versicherungsschutz nicht zu gefährden, sollten Sie die im Abschnitt „Obliegenheiten des Versicherten“ der Allgemeinen Versicherungsbedingungen genannten Punkte beachten, insbesondere folgende:

Während der Dauer der Studie dürfen Sie sich einer anderen ärztlichen Behandlung nur nach Rücksprache mit dem Prüfarzt unterziehen, Notfälle sind von dieser Regelung ausgenommen. Eine Notfallbehandlung muss nachträglich an den Prüfarzt gemeldet werden.

Eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der klinischen Prüfung eingetreten sein könnte, müssen Sie dem Versicherer unverzüglich schriftlich anzeigen. Wenden Sie sich hierzu bitte direkt an:

Versicherung: Gerling- Allgemeine Versicherungs-AG
Gerling-Konzern Köln GmbH
Betriebsgesellschaft
Gereonshof 8
50597 Köln
Versicherungs-Schein Nr.

Der Versicherte hat alle zweckmäßigen Maßnahmen zu treffen, die der Aufklärung der Ursache und des Umfangs des eingetretenen Schadens und der Minderung dieses Schadens dient.

Freiwillige Teilnahme:

Ihre Teilnahme an der Untersuchung ist absolut freiwillig. Sie haben selbstverständlich jederzeit das Recht ohne Angaben von Gründen an dieser Untersuchung nicht teilzunehmen, ohne dass hierdurch notwendige medizinische Maßnahmen beeinträchtigt werden. Gleiches gilt für den Abbruch der Studienteilnahme und den Widerruf der Einwilligung sowie bei einem Widerspruch gegen die Weiterverarbeitung der Daten. Der Studienarzt / die Studienärztin hat das Entscheidungsrecht, den/die Versuchsteilnehmer/in aus Sicherheitsgründen, Änderung der Maßnahmen und andere medizinischen Gründen aus der Studie herauszunehmen.

Angebot einer weitergehenden Unterrichtung:

Sie haben jederzeit die Möglichkeit, dem Prüfarzt weitergehende Fragen zu stellen, welche die Studie betreffen, insbesondere auch über Risiken.

Fragen sind zu richten an:

Herrn Alawi Lütz
Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin
Campus Mitte und Campus Virchow Klinikum
Charité Universitätsmedizin Berlin
Augustenburger Platz 1, 13353 Berlin
Tel: 030 - 450 531 025
Fax: 030 - 450 551909
E-mail: alawi.luetz@charite.de

E. Dokumente

Der/die Studienteilnehmer/in ist während der Dauer der Studienteilnahme verpflichtet, Anweisungen des/der Prüfarztes/-ärztin zu befolgen und diesen über Änderungen seines gesundheitlichen Wohlbefindens unverzüglich zu unterrichten. Gleiches gilt für eine ggf. eingetretene Schwangerschaft, nicht studienbedingte ärztliche Maßnahmen und andere Umstände, die auf den Verlauf der klinischen Studie bzw. die Teilnahme an ihr Einfluss nehmen könnte.

Falls Sie keine weiteren Fragen haben und sich zur Teilnahme an dieser Studie entschlossen haben, unterzeichnen Sie bitte die beiliegende Einwilligungserklärung und fügen Sie das Datum Ihrer Einwilligung ein.

Vielen Dank für Ihre Teilnahme!

E.3. Einwilligung zur Teilnahme



CharitéCentrum für Anästhesiologie, OP-Management und Intensivmedizin

Charité - Universitätsmedizin Berlin | 13344 Berlin

Universitätsklinik für Anästhesiologie
und operative Intensivmedizin



Klinikdirektorin:
Univ.-Prof. Dr. C. Spies

Campus Virchow-Klinikum
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin
Tel. +49 30 450 551001/02
Fax: +49 30 450 551909
anaesthesie-virchow-klinikum@charite.de

Campus Charité Mitte
Charitéplatz 1
10117 Berlin
Tel. +49 30 450 531012/52
Fax: +49 30 450 531911
anaesth@charite.de

<http://www.charite.de/ch/anaest/>

Einwilligung zur Teilnahme

EudraCT-Nr.: 2004-004352-49

Kurztitel: ART V

Studientitel:

„Einfluß der präoperativen Vakzinierung auf das Immunsystem und die postoperative Infektionsrate.“

Vertreter des Sponsors und Leiter der klinischen Prüfung:

Prof. Dr. med. Claudia Spies

Patient: Name, Vorname	Patienten-ID

Bitte lesen Sie das Patienten-Informationsblatt und die Einwilligungserklärung sorgfältig durch.

Bitte fragen Sie bei allen Unklarheiten oder wenn Sie weitere Informationen wünschen.

Ich bin durch den behandelnden Arzt mündlich und schriftlich über Ziel, Dauer, Ablauf, Rechte und Pflichten, sowie Nutzen, Risiken und Nebenwirkungen der klinischen Prüfung aufgeklärt worden. Ich hatte ausreichend Gelegenheit Fragen zu stellen. Diese wurden mir vom aufklärenden Arzt verständlich beantwortet. Außerdem habe ich Kopien der schriftlichen Patienteninformation und der Patienteneinwilligung erhalten. Ich hatte genügend Zeit, um meine Entscheidung zur Teilnahme an dieser klinischen Prüfung frei zu treffen.

Ich weiß, dass meine Teilnahme an der klinischen Prüfung völlig freiwillig ist und dass ich diese Einwilligung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus Nachteile für meine weitere Behandlung entstehen. Sollte ich die klinische Prüfung wegen einer etwaigen Nebenwirkung der Studienmedikamente abbrechen, werde ich dies dem behandelnden Arzt mitteilen.

Über die Versicherungsobliegenheiten einer Patientenversicherung gemäß Arzneimittelgesetz § 40 Absatz 3 wurde ich informiert.

Falls ich gegen eine von mir gemäß dem Versicherungsvertrag zu erfüllenden Obliegenheiten vorsätzlich oder grob fahrlässig verstoße, kann dies zum Verlust des Versicherungsschutzes führen. Die Versicherungsbestätigung und -bedingungen wurden mir vom Prüfarzt ausgehändigt und ich habe sie verstanden.

Datenschutzerklärung

1. *Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobene Daten/Angaben über meine Gesundheit auf Fragebögen und elektronischen Datenträgern aufgezeichnet und ohne Namensnennung (pseudonymisiert) weitergegeben werden an die zuständige Überwachungsbehörde, Bundesoberbehörde (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn), Ethikkommission und ausländische Behörden und europäische Datenbank zur Überprüfung der ordnungsgemäßen Durchführung der Studie, zur Bewertung von Studienergebnissen und unerwünschter Ereignisse oder zur Beantragung der Zulassung.*
2. *Außerdem erkläre ich mich damit einverstanden, dass ein autorisierte und zur Verschwiegenheit verpflichteter Beauftragter der zuständigen inländischen und ausländischen Überwachungs- und Zulassungsbehörde in meine beim Prüfarztvorhandenen personenbezogenen Daten Einsicht nimmt, soweit dies für die Überprüfung der Studie notwendig ist. Für diese Maßnahme entbinde ich den Prüfarzt von der ärztlichen Schweigepflicht.*
3. *Die Einwilligung zur Erhebung und Verarbeitung der Angaben über meine Gesundheit ist unwiderruflich. Ich bin bereits darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme an der klinischen Prüfung beenden kann. Im fall dieses Widerrufs werden die bis zu diesem Zeitpunkt gespeicherten Daten ohne Namensnennung weiterhin verwendet, soweit dies erforderlich ist, um*
 - a. *Wirkungen des zu prüfenden Arzneimittels festzustellen,*
 - b. *sicherzustellen, dass schutzwürdige Interessen der betroffenen Person nicht beeinträchtigt werden,*
 - c. *der Pflicht zur Vorlage vollständiger Zulassungsunterlagen zu genügen.*

E. Dokumente

Darüber hinaus bin ich mit der Entnahme, Herauslösung, Verschlüsselung, Untersuchung sowie verschlüsselten Lagerung meines im Rahmen dieser klinischen Studie entnommenen Blutes für den Zweck der Studie durch den/die Studienarzt/-ärztin bzw. das Labor für Immunologie, Charité Campus Mitte, einverstanden.

Ich erkläre mich auch mit einer Information meines Hausarztes durch den/die Prüfarzt/ Studienärztin über meine Teilnahme an der o. g. Studie einverstanden.

Ich bin vom Arzt mündlich aufgeklärt worden und habe die schriftliche Patienteninformation gelesen und verstanden.

Ich willige in die Teilnahme an der Studie ein. Ich bin mit der Entnahme, dem Umfang sowie mit dem Umgang der für die Durchführung der klinischen Prüfung benötigten Proben einverstanden.

Ort, Datum

Unterschrift des Patienten

Der Patient wurde von mir über Ziel, Dauer, Ablauf, Nutzen, Risiken und Nebenwirkungen der klinischen Prüfung mündlich und schriftlich aufgeklärt. Aufgetretene Fragen wurden von mir verständlich und ausreichend beantwortet. Der Patient hat ohne Zwang seine Einwilligung erteilt. Eine Kopie der schriftlichen Patienteninformation und dieser Patienteneinwilligung habe ich dem Patienten ausgehändigt.

Ort, Datum

Unterschrift des Prüfarztes

F. Lebenslauf

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

G. Publikationsverzeichnis

Teile der vorliegenden Arbeit wurden zur Publikation eingereicht unter dem Titel: „*Influence of preoperative vaccination on HLA-DR expression and postoperative infection rate of patients with upper aerodigestive tract cancer*“ von A. Goldmann, M. Renius, C. Zachmann, R. Kleinwächter, C. von Haefen, K.D. Wernecke und C. Spies in *Anesthesiology* 2013.

Die Autorenschaft von Christin Zachmann begründet sich auf folgenden Kriterien entsprechend den *Uniform Requirements for Manuscripts submitted to biomedical journals* des *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE) [87]: Datenerhebung, Mitarbeit an der biometrischen Auswertung der erhobenen Daten und Mitverfassung des Manuskripts.

H. Danksagung

Ich danke Frau Prof. Dr. med. C. Spies für die Überlassung des Themas, für die Vorbereitung aller Formalien zur Durchführung der Studie, für die kontinuierliche Begleitung, für die finale Revision der Arbeit und für die Bereitstellung aller Unterstützung durch die Betreuer.

Herzlicher Dank gilt Anton Goldmann für die Betreuung, Unterstützung und für ständige Begleitung meiner Arbeit. Seine Anregungen und kritischen Kommentare haben zum guten Gelingen beigetragen. Alawi Lütz danke ich herzlich für die Betreuung während der Studiendurchführung und Datenerhebung.

Clarissa von Haefen, Birgit Brand und Daniela Bayerl danke ich für die freundliche Einarbeitung und Unterstützung während der Arbeit im Labor sowie für die fachliche Hilfe bei immunologischen Fragestellungen.

Prof. Dr. K.-D. Wernecke danke ich für die biometrische Bearbeitung und für die finale Begutachtung meiner biometrischen Auswertungen.

Ganz liebevoller und herzlicher Dank gilt meiner Mitstreiterin und inzwischen lieben Freundin Birgit Rückershausen für das wirklich schöne Miteinander sowie für die Hilfe, Unterstützung und Motivation während der gesamten Promotionsphase.

Nicht zu beziffernder Dank gilt meinen Eltern für die bedingungslose und liebevolle Unterstützung in allen Lebenslagen. Ohne sie wäre weder mein Medizinstudium, noch das Gelingen dieser Dissertation möglich gewesen.

Ich danke meinen Großeltern ganz herzlich für die regelmäßige geistige Anteilnahme an meiner Arbeit und im Speziellen Herrn Dr. Siegfried Zachmann für das fleißige und gewissenhafte Korrekturlesen. Familie Schreiber danke ich herzlich für die moralische und großzügige materielle Förderung.

Malte, ohne Dich hätte ich es nicht geschafft. Tausend Dank.

I. Eidesstattliche Versicherung

Ich, Christin Zachmann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „*Einfluss einer präoperativen Impfung auf die monozytäre HLA-DR-Expression bei Patienten mit einem Tumor des oberen Aerodigestivtraktes*“ 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 *International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)* [siehe www.icmje.org]) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung zur Vorbereitung der Analysen mit dem Biometriker) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) 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: