

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

DISSERTATION

**Einfluss des Geschlechts auf die postoperative HLA-DR-Expression nach  
elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Anja Philippeit  
aus Köthel

Datum der Promotion: 25.10.2013

**Für meine Familie**

Teilergebnisse dieser Promotion wurden in folgender Originalarbeit veröffentlicht:

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

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

Eingereicht im Januar 2013 beim „American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine“.

Weitere Publikationen sind nach Primärpublikation zu meinem Thema geplant.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Abstract</b>	<b>6</b>
<b>2 Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>9</b>
<b>3 Einleitung</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Klinische Relevanz</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Postoperative immunologische Veränderungen</b>	<b>11</b>
<b>3.3 Geschlechterunterschiede und deren Einfluss auf das Immunsystem</b>	<b>11</b>
<b>3.4 Weitere Einflussfaktoren auf das Immunsystem</b>	<b>12</b>
<b>3.5 Monozytenfunktion und HLA-DR-Expression</b>	<b>12</b>
3.5.1 Einfluss von Operationen auf die HLA-DR-Expression	13
3.5.2 Einfluss des Geschlechts auf die HLA-DR-Expression	14
3.5.3 HLA-DR als prädiktiver Marker	14
<b>4 Fragestellung</b>	<b>16</b>
<b>5 Patienten und Methodik</b>	<b>17</b>
<b>5.1 Genehmigung der Studie</b>	<b>17</b>
<b>5.2 Patientenkollektiv</b>	<b>17</b>
5.2.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien	18
5.2.2 Abbruchkriterien	19
5.2.3 Gruppeneinteilung	20
<b>5.3 Pankreas- und Ösophagusresektion</b>	<b>21</b>
<b>5.4 Labor</b>	<b>21</b>
5.4.1 Blutentnahmen	21
5.4.2 Quantifizierung der monozytären HLA-DR-Expression	22
<b>5.5 Dokumentation des postoperativen Verlaufs</b>	<b>23</b>
5.5.1 Postoperative Komplikationen	23
<b>5.6 Statistik</b>	<b>27</b>

<b>6</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>29</b>
<b>6.1</b>	<b>Basischarakteristika</b>	<b>29</b>
<b>6.2</b>	<b>Primärziel</b>	<b>30</b>
6.2.1	Einfluss des Geschlechts auf die HLA-DR-Expression	30
6.2.2	Multivariate nichtparametrische Varianzanalyse (MANOVA)	31
6.2.3	Multivariate nichtparametrische Kovarianzanalyse (MANCOVA)	33
<b>6.3</b>	<b>Sekundärziel</b>	<b>34</b>
6.3.1	Einfluss des Geschlechts auf die Infektionsrate	34
6.3.2	Einfluss des Geschlechts auf SIRS	35
6.3.3	Einfluss des Geschlechts auf die Infektionsrate oder SIRS oder beides	35
<b>7</b>	<b>Diskussion</b>	<b>36</b>
<b>7.1</b>	<b>Studienergebnisse</b>	<b>36</b>
<b>7.2</b>	<b>Basischarakteristika</b>	<b>36</b>
<b>7.3</b>	<b>HLA-DR-Expression</b>	<b>37</b>
7.3.1	Postoperativer Abfall von HLA-DR	37
7.3.2	Geschlechterunterschiede bei der HLA-DR-Expression	38
<b>7.4</b>	<b>Geschlechterunterschiede im postoperativen Verlauf</b>	<b>39</b>
<b>7.5</b>	<b>HLA-DR als prädiktiver Marker für postoperative Infektionen</b>	<b>40</b>
<b>7.6</b>	<b>Limitationen der Studie</b>	<b>40</b>
<b>7.7</b>	<b>Schlussfolgerung</b>	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>42</b>
<b>9</b>	<b>Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>48</b>
<b>10</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>50</b>
<b>11</b>	<b>Danksagung</b>	<b>51</b>

## 1 Abstract

### **Sex differences in surface antigen expression of peripheral blood mononuclear cells after pancreatectomy or oesophagectomy**

**Background:** Clinical studies have observed a higher risk in men for Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) or sepsis. But women have a higher case fatality rate in case of such a complication. A post-operative decrease in human leukocyte antigen-DR (HLA-DR) is a potential marker for these entities and as an indicator of globally impaired immunologic competence. The purpose of this study was to determine sex differences in postoperative HLA-DR-Expression. Additionally, postoperative infections were compared between male and female patients.

**Methods:** 38 patients who underwent either pancreatectomy or oesophagectomy were enrolled in this study. HLA-DR on monocytes in 21 men and 17 women were observed before surgery till post operative day 5 (POD5). Postoperative infectious complications and the development of SIRS were furthermore compared from POD1 till POD9.

**Results:** Both groups had a significant decrease in HLA-DR after surgery until POD2. There was an increase in HLA-DR expression from POD2 on with higher expressions in women. The HLA-DR-Expression on monocytes was significantly lower in men on POD3, POD4 and POD5. There were no sex differences found in postoperative infectious complications or SIRS.

**Conclusion:** There was a decrease in HLA-DR-Expression found in both groups after surgery. The sex differences on POD3 till POD5 possibly suggest an increased susceptibility for men to develop postoperative infectious complications or SIRS, however this could not be elucidated through this study, with further research being warranted.

**Keywords:** Sex differences, HLA-DR expression, postoperative infection

## **Einfluss des Geschlechts auf die postoperative HLA-DR-Expression nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion**

**Hintergrund:** Studien beschreiben ein höheres Risiko für Männer an systemic inflammatory response syndrome oder Sepsis zu erkranken. Bei Frauen ist dagegen die Letalität erhöht, wenn sie eine solche Komplikation erleiden. Humanes Leukozyten Antigen-DR (HLA-DR) kann als monozytäres Oberflächenmolekül und aufgrund des postoperativen Abfalls einen Marker darstellen, der mit Infektionen assoziiert sein kann. Das Ziel dieser Arbeit war, den Einfluss des Geschlechts auf die postoperative HLA-DR-Expression der Monozyten und auf die postoperative Infektionsrate bzw. auf SIRS zu untersuchen.

**Methoden:** Die Daten wurden bei 38 Patienten nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion mit vorliegender Zustimmung der Ethikkommission und schriftlichem Einverständnis der Patienten erhoben. Die Gruppeneinteilung erfolgte in Männer (n=21) und Frauen (n=17). Bei allen Patienten wurde die Expression vom HLA-DR vor der Operation und an den ersten fünf postoperativen Tagen mittels Durchflusszytometrie bestimmt. Außerdem wurden postoperative Komplikationen an den ersten neun Tagen nach der Operation, die entsprechend der Centre of Disease Control and Prevention - Definitionen, bzw. Hospital-Acquired Pneumonia - Kriterien oder nach den Kriterien der 'Society of Critical Care Medicine Consensus Conference' erfasst wurden, dokumentiert. Alle Zielgrößen wurden zunächst mit der Methode der explorativen Datenanalyse untersucht und deskriptiv ausgewertet. Der Verlauf der HLA-DR-Expression wurde über den gesamten Zeitraum mit Hilfe der multivariaten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten nach Brunner analysiert.

**Ergebnisse:** Nachdem sich Männer und Frauen vor der Operation nicht in ihrer HLA-DR-Expression unterschieden, kam es postoperativ zunächst in beiden Gruppen zu einem signifikanten HLA-DR-Abfall bis zum 2. postoperativen Tag. Ab dem 2. postoperativen Tag stiegen die HLA-DR-Werte bei allen Patienten wieder an, wobei der Anstieg bei den Frauen stärker ausfiel. Signifikante Unterschiede in der HLA-DR-Expression zwischen Männern und Frauen konnten am 3., 4. und 5. postoperativen Tag notiert werden. Ein Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der postoperativen Infektionen bzw. dem systemic inflammatory response syndrome wurde nicht beobachtet.

**Schlussfolgerung:** Postoperativ kam es sowohl bei Männern als auch bei Frauen zu einem HLA-DR Abfall. Bei den Patienten konnte nach diesen großen operativen Eingriffen ein signifikanter HLA-DR Unterschied zwischen den Geschlechtergruppen am 3.-5. postoperativen Tag gefunden werden. HLA-DR wurde als prädiktiver Marker für postoperative Infektionen nicht bestätigt, wobei zur Sicherung der Aussage zur Beurteilung der Geschlechterunterschiede in der postoperativen HLA-DR-Expression in Bezug auf die Infektionsrate größere Patientenkollektive notwendig sind.

**Schlüsselwörter:** Geschlechterunterschiede, HLA-DR-Expression, postoperative Infektion

## 2 Abkürzungsverzeichnis

<b>AG/M</b>	Antigene/Monozyt
<b>APZ</b>	Antigenpräsentierende Zellen
<b>ART</b>	Addiction Research Team
<b>ASA</b>	American Society of Anesthesiologists
<b>AUDIT</b>	Alcohol Use Disorders Identification Test
<b>BE</b>	Blutentnahme
<b>BMI</b>	Body-Mass-Index
<b>CD</b>	Cluster of Differentiation
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention
<b>CRF</b>	Case Record Form
<b>FACS</b>	Fluorescence Activated Cell Sorting
<b>GM-CSF</b>	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
<b>HAP</b>	Hospital Acquired Pneumonia
<b>HLA-DR</b>	Humanes Leukozyten Antigen-DR
<b>KBE</b>	Koloniebildende Einheiten
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharid
<b>MANCOVA</b>	Multivariate Analysis of Covariance
<b>MANOVA</b>	Multivariate Analysis of Variance
<b>NAS</b>	Numerische analoge Schmerzskala
<b>OD</b>	Operative Day
<b>OP</b>	Operation
<b>OR</b>	Odds Ratio
<b>PE</b>	Phycoerythrin
<b>PEI</b>	Paul-Ehrlich-Institut
<b>POD</b>	Post-Operative Day
<b>SAE</b>	Serious Advere Events <b>SD</b> Standardabweichung
<b>SIRS</b>	Systemic Inflammatory Response Syndrome
<b>WHO</b>	World Health Organisation

## 3 Einleitung

### 3.1 Klinische Relevanz

Im Jahr 2009 wurden in deutschen Krankenhäusern 14,4 Millionen Operationen durchgeführt [1]. Trotz eines hohen klinischen Standards und optimaler postoperativer Versorgungsmöglichkeiten kann das Auftreten von nosokomialen Infektionen oftmals nicht verhindert werden. Mit einer mittleren Infektionsrate von 0,9 – 7,9 % gilt die postoperative Wundinfektion als häufigste Infektion nach chirurgischen Eingriffen [2]. Einige Patienten erkranken postoperativ beispielsweise auch an Harnwegsinfektionen und Pneumonien und erleiden Komplikationen bis hin zum systemic inflammatory response syndrome (SIRS) oder zur Sepsis [3]. Die Betroffenen müssen in diesem Fall eventuell mit länger anhaltenden Schmerzen und Funktionseinschränkungen rechnen. Außerdem könnten Folgeoperationen nötig sein. Schlimmstenfalls kann der Tod durch nicht beherrschbare Infektionen eintreten [4].

Auch ökonomisch wirken sich postoperative Komplikationen negativ auf das Krankenhaus aus. Die Kosten steigen durch die Verlängerung der Verweildauer im Krankenhaus sowie durch zusätzliche diagnostische und therapeutische Maßnahmen, die aufgrund der Infektion durchgeführt werden müssen [5, 6].

Aus diesem Grund haben eine frühe Diagnose von Infektionen und die gezielte Behandlung einen sehr hohen Stellenwert im klinischen Alltag.

Das monozytäre Oberflächenmolekül Humanes Leukozyten Antigen-DR (HLA-DR) könnte einen Marker darstellen, der Infektionen vor ihrer klinischen Manifestation erkennen lässt [7-12]. Da die Messung von HLA-DR schnell, einfach und kostengünstig ist, könnte sie hilfreich in der Routineüberwachung vor allem von intensivmedizinischen Patienten sein, da diese besonders häufig an Infektionen erkranken [13].

### **3.2 Postoperative immunologische Veränderungen**

Eine Operation stellt eine besondere Herausforderung für den menschlichen Körper dar. Auf operative Eingriffe reagiert das Immunsystem mit einer veränderten Freisetzung von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen, was wiederum zu einer Änderung in der zellulären und humoralen Immunantwort führt [14]. Dieses immunologische Ungleichgewicht kann die Entstehung postoperativer Komplikationen begünstigen [9, 15]. Außerdem wird die Immunreaktion nach operativen Eingriffen neben dem Geschlecht durch verschiedene Faktoren beeinflusst, die im Folgenden näher beschrieben sind.

### **3.3 Geschlechterunterschiede und deren Einfluss auf das Immunsystem**

Das Geschlecht ist ein nicht änderbares Risiko und gehört daher zu den sogenannten natürlichen Risikofaktoren für postoperative Komplikationen [16].

In Tierversuchen wurde nachgewiesen, dass weibliche Tiere eine bessere posttraumatische Immunreaktion haben als männliche und somit ein besseres Überleben aufweisen [17, 18].

In klinischen Studien konnten diese Ergebnisse teilweise bestätigt werden. Es wurde bei Männern in früheren Publikationen eine höhere Anfälligkeit für postoperative Komplikationen beschrieben. In der Studie von Offner et al. hatten die männlichen Patienten ein mehr als doppelt so hohes Risiko für postoperative Infektionen [19]. Einen Unterschied zeigten auch Gannon et al. Bei ihnen erkrankten Männer postoperativ 1,6 mal häufiger an einer Pneumonie als Frauen [20]. Ein möglicher Erklärungsansatz hierfür ist, dass Androgene für die posttraumatische Immundepression bei Männern verantwortlich gemacht werden, während weibliche Sexualhormone über protektive Eigenschaften verfügen [17].

Während Männer offensichtlich ein höheres Risiko für Infektionen haben, wird bei Frauen, wenn sie eine Infektion erleiden, eine höhere Letalität beschrieben. Eachempati et al. demonstrierten in ihrer Studie das weibliche Geschlecht als unabhängigen Prädiktor für eine erhöhte Mortalität bei Patienten mit einer Infektion auf der Intensivstation. Bei über 80-jährigen Frauen war das Mortalitätsrisiko ungefähr doppelt so hoch [21]. Nachtigall et al. konnten mehr als ein Jahrzehnt später zwar keine Geschlechterunterschiede bezüglich des Outcomes auf chirurgischen Intensivstationen feststellen. Bei Patienten mit Sepsis war die Mortalität bei Frauen aber um fast 70% signifikant erhöht [22]. 2009 konnten Combes et al. zudem aufzeigen, dass Frauen im

Vergleich zu Männern ein erhöhtes Risiko aufweisen, an nosokomialen Infektionen zu sterben [23].

### **3.4 Weitere Einflussfaktoren auf das Immunsystem**

Neben dem Geschlecht gehört das Alter zu den natürlichen Risikofaktoren für postoperative Komplikationen. Ab 50 bis 65 Jahren stellt das Alter ein Risiko für postoperative Infektionen dar und ab diesem Zeitpunkt steigt das Infektionsrisiko mit jedem Dezennium an [16].

Außerdem zählen Übergewicht, Alkohol und Rauchen zu den häufigsten unabhängigen Risikofaktoren. Extremes Übergewicht ist insbesondere nach orthopädischen, kardiologischen, traumatologischen und gynäkologischen Operationen mit einer bis zu 36 % erhöhten postoperativen Komplikationsrate im Vergleich mit normalgewichtigen Patienten assoziiert [24]. Bei Patienten mit Alkoholkrankheit kann ebenfalls ein Zusammenhang mit einer erhöhten postoperativen Mortalität gestellt werden. Es verlängert sich der intensivmedizinische Aufenthalt ebenso wie der gesamte Krankenhausaufenthalt [25]. Rauchen erhöht nachweislich das Risiko für Wundinfektionen und postoperative Mortalität. Zusätzlich ist die Verweildauer im Krankenhaus verlängert [26].

Die Narkoseklassen der „American Society of Anesthesiologists“ (ASA) sind ebenfalls ein wichtiger Risikofaktor für das Auftreten von postoperativen Infektionen. Bei Patienten der ASA Klassen I und II treten seltener postoperative Wundinfektionen auf als bei Patienten mit den ASA Klassen III, IV oder höher [27].

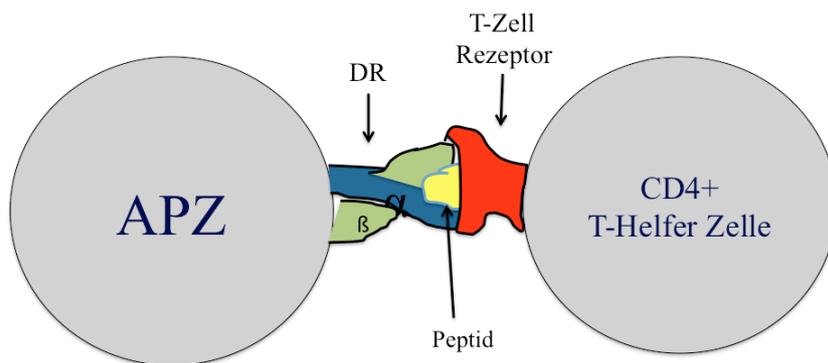
Auch die Art der Operation hat Einfluss auf den postoperativen Verlauf. Der HLA-DR-Abfall korreliert mit der Größe des operativen Eingriffs [28].

Präoperativer Stress in Form von Schmerzen, die anhand der numerischen analogen Schmerzskala (NAS) erhoben werden können, führt zu einer Suppression pro-inflammatorischer Zytokine und kann somit ebenfalls einen Risikofaktor darstellen [29, 30].

### **3.5 Monozytenfunktion und HLA-DR-Expression**

Monozyten bilden als Zellen der myeloischen Reihe die Vorläuferzellen der gewebeständigen Makrophagen und dendritischen Zellen. Nach direkter oder indirekter Aktivierung übernehmen sie wichtige Aufgaben der Immunabwehr. Sie präsentieren prozessierte Antigene an T-Lymphozyten und setzen Zytokine frei, um die humorale und zelluläre Immunantwort einzuleiten [11].

Hierbei nimmt HLA-DR eine wichtige Rolle ein. Das glykosylierte Membranprotein wird auf der Zelloberfläche von Antigenpräsentierenden Zellen (APZ) wie Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Lymphozyten exprimiert [31]. Die genaue Aufgabe liegt in der Präsentation von prozessierten Antigenen an „Cluster of Differentiation 4“ (CD4) positive T-Zellen, um so die spezifische Immunantwort einzuleiten und potentielle Pathogene wirksam zu entfernen (*Abbildung 1*) [31]. Misst man die Expression von HLA-DR-Molekülen auf Monozyten mittels Durchflusszytometrie, kann der funktionelle Status der Zellen abgeschätzt werden [13].



*Abbildung 1: Antigen-Präsentation* [32]

### 3.5.1 Einfluss von Operationen auf die HLA-DR-Expression

Mehrere Studien haben gezeigt, dass große chirurgische Eingriffe zu einem postoperativen Abfall der HLA-DR-Expression führen. Die Monozyten sind durch das operative Trauma in ihrer Funktion negativ beeinflusst und in ihrer Reaktionsfähigkeit vermindert. Dies hat eine veränderte Antigenpräsentation zur Folge, die durch eine reduzierte HLA-DR-Expression charakterisiert ist [8, 33, 34]. Es gibt Studien, die eine postoperative Abnahme der HLA-DR-Expression in der Thoraxchirurgie beschreiben [9, 35, 36]. Auch bei Traumapatienten [10, 14, 37, 38] und Patienten mit Brandverletzungen [39] fand sich ein Abfall von HLA-DR. In der Viszeralchirurgie wurden Studien veröffentlicht, die ebenfalls einen Abfall der HLA-DR-Expression nach einem großen Eingriff beschreiben [8, 40-44].

### 3.5.2 Einfluss des Geschlechts auf die HLA-DR-Expression

Im Jahr 2005 wurde bereits eine Studie zu Geschlechterunterschieden in der HLA-DR-Expression veröffentlicht [42]. In der einzigen Publikation zu diesem Thema untersuchten Ono et al. 25 Patienten (16 männlich, 9 weiblich), die sich einer Gastrektomie unterzogen, unter anderem in Bezug auf die HLA-DR-Expression und die postoperativen Komplikation wie Infektionen und SIRS. Allerdings wurde die HLA-DR-Expression nur an zwei Zeitpunkten - vor und nach der Operation - ausgewertet. Präoperativ konnten Ono et al. keine Unterschiede in der HLA-DR-Expression zwischen den Geschlechtern feststellen. Postoperativ kam es nur bei Männern zu einem signifikanten Abfall der HLA-DR Werte.

Bezüglich der Entstehung von postoperativen Infektionen oder SIRS konnten sie in ihrer Arbeit keine Unterschiede zwischen Männern und Frauen notieren.

### 3.5.3 HLA-DR als prädiktiver Marker

Die HLA-DR-Expression wurde in bisherigen Studien kontrovers als prädiktiver Marker für postoperative Infektionen diskutiert. Außerdem konnte die detaillierte Pathophysiologie, die zum HLA-DR-Abfall führt, bis heute noch nicht endgültig entschlüsselt werden [28]. In unterschiedlichen Patientenpopulationen konnte gezeigt werden, dass eine verminderte HLA-DR-Expression mit einer erhöhten Infektionsrate einhergeht [7-12]. Andere, teilweise aktueller publizierte Studien widersprachen dieser Aussage. Sowohl Perry et al. als auch Oczenski et al. konnten zeigen, dass eine verminderte HLA-DR-Expression nicht mit einem schlechteren Outcome assoziiert ist [35, 45]. Mokart et al. beschrieben in ihrer Studie im Jahr 2011, dass sie keine Relation zwischen HLA-DR-Abfall und Sepsis finden konnten [44]. Ono et al. konnten bei Patienten nach Gastrektomie ebenfalls keinen Zusammenhang mit postoperativen Infektionen herstellen, vermuten jedoch die geringe Patientenzahl (n = 25) als Ursache hierfür [42].

2010 versuchten Lukaszewicz et al. vergeblich HLA-DR als Biomarker für Immunkompetenz in Intensivpatienten nachzuweisen [31]. 2009 haben sie in einer Studie mit 283 Patienten, die aufgrund verschiedener Ursachen intensivpflichtig waren, gezeigt, dass persistierend niedrige HLA-DR Werte mit nosokomialen Infektionen assoziiert sind [46].

Auch Handy et al. fanden einen signifikanten Abfall der HLA-DR-Expression bei Patienten nach kleineren chirurgischen Eingriffen und nicht - wie in früher beschriebenen Studien - nur nach großen operativen Eingriffen. Sie beschrieben den HLA-DR-Abfall sowohl als Prozess der

Down-Regulierung als auch als ein Phänomen, das lediglich durch die postoperativ vermehrte Freisetzung von unreifen Monozyten, die weniger HLA-DR exprimieren, widerspiegelt wird [47].

## 4 Fragestellung

Große chirurgische Eingriffe wie in der Thorax-, Trauma- und Viszeralchirurgie beeinflussen die postoperative Immunreaktion. Es kommt nach einer Operation zu einer verminderten monozytären HLA-DR-Expression [7-9, 36, 40, 41]. Ein solcher Abfall der HLA-DR-Expression geht mit einer gehäuften Prävalenz von Infektionen und Sepsis einher [7, 10, 35, 37]. Frühere Studien haben bei Männern eine bis zu 58 % höhere Anfälligkeit für postoperative Komplikationen beschrieben [19, 48]. Bei Frauen wird dagegen die Mortalität bis zu doppelt so hoch angegeben, wenn sie eine Infektion mit möglicher Folge einer Sepsis erleiden [21, 23, 49, 50]. Die frühzeitige Feststellung geschlechterspezifischer immunologischer Veränderungen auf zellulärer Ebene könnte eine frühe individuelle Prophylaxe und Therapie von postoperativen Komplikationen ermöglichen. Dadurch können die Morbiditäts- und Mortalitätsraten gesenkt werden. Aus diesem Grund wurden folgende Endpunkte in der vorliegenden Arbeit untersucht.

### **Primäres Ziel**

Primäres Ziel dieser Arbeit war es, einen geschlechterspezifischen HLA-DR-Abfall nach Pankreas- oder Ösophagusresektion zu ermitteln und Geschlechterunterschiede in der HLA-DR-Expression im Zeitraum von Operationstag (OD) bis zum 5. postoperativen Tag (POD5) festzustellen.

### **Sekundäres Ziel**

Als sekundäres Ziel wurde der Einfluss des Geschlechts auf die postoperative Infektionsrate bzw. auf SIRS nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion untersucht.

## 5 Patienten und Methodik

### 5.1 Genehmigung der Studie

Die Untersuchungen zu dieser Arbeit fanden im Rahmen der Addiction Research Team- (ART-) VI-Studie („Einfluss einer postoperativen Vakzination oder von granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) bei immunsupprimierten Patienten nach Pankreas- oder Ösophagusresektion auf den Verlauf einer Immunsuppression und die postoperative Infektionsrate“) in der Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow-Klinikum statt. Die Genehmigung erfolgte durch die zuständige Ethikkommission des Landes Berlin (Ethikantragsnummer: ZS EK 15/287/08) und die Arzneimittelzulassung durch das Paul-Ehrlich-Institut (PEI) (Vorlagenummer PEI: 660). Die Studie ist bei den europäischen Behörden (European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials: EudraCT 2007-003111-31) registriert. Bei der ART-VI-Studie handelt es sich um eine monozentrische, placebokontrollierte, doppelblinde, randomisierte, dreiarmlige Pilotstudie im Paralleldesign.

Durchgeführt wurde die Studie unter Berücksichtigung der Regeln der Good Clinical Practice (GCP). Das Monitoring wurde vom Koordinationszentrum Klinische Studien Charité (KKS Charité) übernommen.

### 5.2 Patientenkollektiv

Für die ART-VI-Studie wurden im Zeitraum vom 26.10.2008 bis zum 16.04.2011 insgesamt 319 Patienten gescreent. Die 63 ART-VI-Studienteilnehmer, die einen postoperativen HLA-DR-Abfall auf  $\leq 10.000$  Antigene/Monozyt (AG/M) nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion aufwiesen, wurden in drei Gruppen randomisiert. Sie erhielten zusätzlich zu ihrer Standardbehandlung postoperativ und je nach Gruppenzuteilung den Influenza-Impfstoff Mutagrip (n = 21), Sargramostim (GM-CSF) (n = 20) oder Placebo (n = 20). Zusätzlich gab es eine Kontrollgruppe (n=18), deren HLA-DR-Wert am ersten postoperativen Tag bei über 10.000 AG/M lag. Für diese Arbeit wurden die Patienten der Placebo- und der Kontrollgruppe berücksichtigt (*Abbildung 2*).

### 5.2.1 Einschluss- und Ausschlusskriterien

Präoperativ wurden die Patienten über den Inhalt und die Risiken der Studie mündlich sowie schriftlich durch die Studienärzte aufgeklärt. Außerdem wurden die aktuelle Begleitmedikation und eventuell bekannte Vorerkrankungen insbesondere unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien überprüft.

#### Einschlusskriterien:

- elektive Pankreas- oder Ösophagusresektion
- Alter  $\geq$  18 Jahre
- Durchgeführte Patientenaufklärung
- Schriftliche Einwilligung
- Negativer Schwangerschaftstest im Rahmen des Screening ( $\beta$ -HCG im Urin)
- Hocheffektive Kontrazeption bei Frauen (definiert als Pearl Index  $<$  1) oder anamnestisch mehr als 2 Jahre postmenopausal
- Keine Teilnahme an einer anderen Studie nach dem Arzneimittelgesetz einen Monat vor Studieneinschluss sowie während der gesamten Studienteilnahme

#### Ausschlusskriterien:

- Patienten, die im Rahmen der ART-VI-Studie Verum bekommen haben
- Fehlende Bereitschaft zur Speicherung und Weitergabe pseudonymisierter Krankheitsdaten im Rahmen der klinischen Prüfung
- Unterbringung in einer Anstalt auf gerichtliche oder behördliche Anordnung
- Mitarbeiter der Charité – Universitätsmedizin Berlin
- Stillzeit
- Angeborene oder erworbene Bluterkrankung
- Chemo- oder Radiotherapie innerhalb der letzten 28 Tage
- Leukämie
- Notfalloperation
- Nachgewiesene Infektion in den letzten 7 Tagen vor der geplanten Operation
- Bekannte Hepatitis B oder C Infektion oder positiver Labortest im Rahmen des Screenings
- Bekannte HIV-Infektion oder positiver Labortest im Rahmen des Screenings

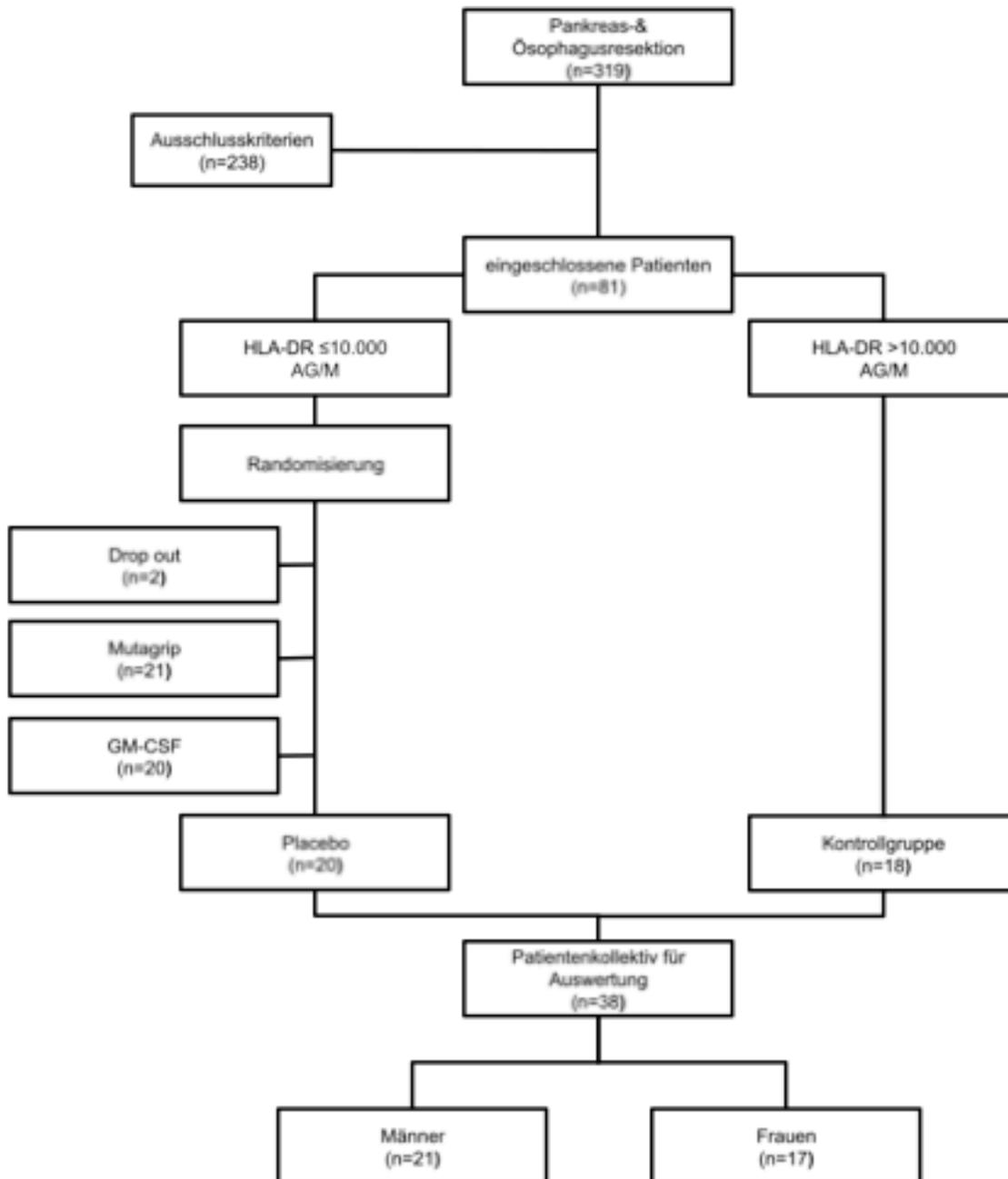
- Bekannte Allergien/Überempfindlichkeiten auf einen der arzneilich wirksamen oder sonstige Bestandteile bzw. auf einen der möglichen Produktionsrückstände der genannten Prüfpräparate
- Autoimmunerkrankungen
- Einnahme von Immunsuppressiva bis zu vier Wochen vor Studieneinschluss
- Nicht therapierte Herzrhythmusstörungen
- Instabile Angina pectoris
- Symptomatische angeborene Herzfehler
- Thrombosen oder thrombembolische Ereignisse in der klinischen Vorgeschichte
- Körpergewicht  $< 50\text{kg}$
- Labor am Tag vor der Operation:
  - Thrombozyten  $\leq 100.000/\mu\text{l}$
  - Neutrophile  $\leq 1.500/\mu\text{l}$
  - Hämoglobin  $\leq 8\text{mg/dl}$
  - Bilirubin  $> 2\text{mg/dl}$
  - Kreatinin  $> 1,5\text{mg/dl}$
  - ASAT/ALAT  $> 90\text{U/l}$

### 5.2.2 Abbruchkriterien

- Widerruf der Einwilligung
- Allergische Reaktion oder andere schwere Nebenwirkungen nach Applikation der Prüfpräparate
- Schwerwiegende unerwünschte Ereignisse (SAE) oder andere medizinische Notfälle, die eine Entblindung des Patienten notwendig machen
- Eintritt einer Schwangerschaft
- Jede andere Situation, bei der nach Ansicht des Prüfarztes eine weitere Teilnahme an der klinischen Prüfung nicht im besten Interesse des Patienten sein würde
- Umstände für eine therapeutische Intervention, die durch das Protokoll nicht zugelassen ist
- Nachträgliches Auftreten eines Ausschlusskriteriums

### 5.2.3 Gruppeneinteilung

In dieser Arbeit wurden ausschließlich die Patienten der Placebogruppe und diejenigen der Kontrollgruppe berücksichtigt. Es erfolgte eine Gruppeneinteilung in Männer (n = 21) und Frauen (n = 17) (*Abbildung 2*).



*Abbildung 2: Patientenkollektiv*

### **5.3 Pankreas- und Ösophagusresektion**

Die Pankreas- und Ösophagusresektionen wurden von Ärzten der Klinik für Allgemein-, Visceral- und Transplantationschirurgie der Charité – Universitätsmedizin Berlin am Standort Campus Virchow-Klinikum durchgeführt.

Vor und während der Operation sowie im postoperativen Verlauf wurden alle Studienpatienten nach den Standards der Universitätsklinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Charité – Universitätsmedizin Berlin, behandelt.

### **5.4 Labor**

#### **5.4.1 Blutentnahmen**

- präoperativ (OD)
- 1. Postoperativer Tag (POD1)
- 2. Postoperativer Tag (POD2)
- 3. Postoperativer Tag (POD3)
- 4. Postoperativer Tag (POD4)
- 5. Postoperativer Tag (POD5)

Um HLA-DR zu bestimmen, wurden den Studienpatienten insgesamt sechs Blutproben von je ca. 2ml (EDTA-Vollblut) entnommen. Außerdem wurden jeweils ein Differentialblutbild erstellt und die Infektparameter bestimmt. Die erste Blutentnahme erfolgte in der Regel einen Tag vor der Operation auf Normalstation oder spätestens vor der Narkoseeinleitung. An den postoperativen Tagen wurde das Blut um 8.00 Uhr auf der Intensiv- oder Normalstation entnommen. Im Anschluss an die Blutentnahmen erfolgte stets die Weiterverarbeitung der Blutproben innerhalb von vier Stunden durch das Labor des Instituts für Medizinische Immunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin. Der Transport des Blutes erfolgte bei Raumtemperatur.

### 5.4.2 Quantifizierung der monozytären HLA-DR-Expression

Die Expression von HLA-DR auf Monozyten wurde mittels Durchflusszytometrie (FACS, Fluorescence Activated Cell Sorting) bestimmt, deren Grundprinzip die Messung von Streulicht zuvor markierter Zellen darstellt (FACS™-Methode).

Mittels Quantibrite™ Phycoerythrin (PE) -Beads und der Färbung von HLA-DR mit einem anti HLA-DR-Antikörper, der in einem Verhältnis 1:1 mit PE Molekülen konjugiert war, wurde eine Eichkurve generiert. Die Quantibrite™ PE-Beads waren mit definierten Mengen an PE-Molekülen markiert und wurden mit den gleichen Geräteeinstellungen gemessen wie Monozyten. Die Fluoreszenzintensitäten der Beads wurden gegen die definierten Mengen an PE-Molekülen/Bead aufgetragen und erlaubten so die Übertragung der Fluoreszenzintensitäten der HLA-DR-Messung in PE-Moleküle/Monozyt. Mit Hilfe des Monozyten-Differenzierungsantigens CD14 wurden die Monozyten identifiziert.

Die Analyse wurde an einem FACS-Calibur™ Durchflusszytometer mit Hilfe der CellQuest™-Software durchgeführt. Es folgte eine „QuantiBRITE™ PE-Kit“-Kalibrierung für eine 1:1 Quantifizierung und eine Bestimmung der monozytären HLA-DR-Expression anhand des Programms QuantiCALC™ (BD).

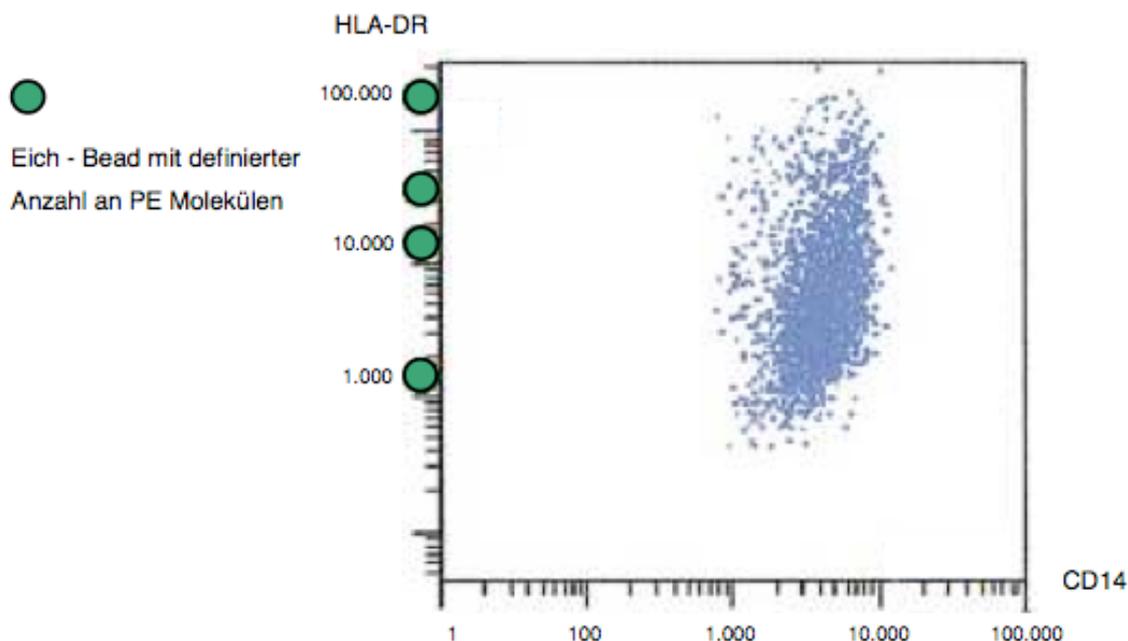


Abbildung 3: Streudiagramm CD14+ Leukozyten (Monozyten)/HLA-DR-Expression [7]

Herstellung der Probe:

- 50µl EDTA-Vollblut wurden zunächst mit 20µl eines Antikörpergemischs versetzt. Dieses bestand aus anti-HLA-DR-Antikörpern, die mit Phycoerythrin konjugiert waren (anti-human HLA-DR-PE), und aus anti-CD14-Antikörpern, die mit Peridin-Chlorophyll konjugiert waren (anti-human CD14-PerCP-Cy5.5), sowie einem HLA-DR-turnover-Inhibitor (BD Quantibrite™ HLA-DR/Monocyte reagent; Becton Dickinson).

Es schlossen sich folgende Arbeitsschritte an:

- Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln für 30 Minuten
- Vortexen
- Zugabe von 500µl FACS-Lyselösung (Becton Dickinson)
- Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln für 15 Minuten
- Zentrifugieren für 5 Minuten bei 200g
- Absaugen des Überstands auf ein Restvolumen von etwa 100µl
- Vortexen
- Zugabe von 1ml FACS-Puffer-Lösung
- Zentrifugieren für 5 Minuten bei 200g
- Absaugen des Überstands auf ein Restvolumen von etwa 100µl
- Probe ist messbereit

## **5.5 Dokumentation des postoperativen Verlaufs**

Die Patienten wurden von POD1 - POD9 täglich visitiert sowie klinisch untersucht. Die Ergebnisse und Beobachtungen wurden in dem für die Studie erstellten ‚Case Record Form‘ (CRF) dokumentiert. Klinische Befunde und Ergebnisse der Labormedizin bildeten die Grundlage zur Diagnose von postoperativen Komplikationen.

### **5.5.1 Postoperative Komplikationen**

Für die Diagnose der Infektionen des unteren Respirationstraktes, der postoperativen Wundinfektionen, Harnwegsinfektionen, und der Sinusitis galten die ‚Center of Disease Control‘ (CDC) -Definitionen [51]. Eine nosokomiale Pneumonie wurde anhand der ‚Hospital-

Acquired Pneumonia“ (HAP) -Kriterien [52] diagnostiziert und eine Sepsis wurde entsprechend den Kriterien der ‚Society of Critical Care Medicine Consensus Conference‘ [53] erfasst.

#### Infektionen des unteren Respirationstraktes

Zu den Infektionen des unteren Respirationstraktes, mit Ausnahme der Pneumonie, zählen Bronchitis, Tracheobronchitis und Tracheitis. Der Patient weist keine klinischen oder radiologischen Zeichen einer Pneumonie auf und erfüllt zwei der folgenden Symptome:

- Fieber > 38 °C
- Husten
- neue oder erhöhte Sputumproduktion
- trockene Rasselgeräusche
- Giemen

und eines der folgenden Kriterien:

- Isolierung eines Mikroorganismus aus dem Trachealsekret oder dem bei der bronchioalveolären Lavage gewonnenem Material
- Positiver Antigentest in den Atemwegssekreten

#### Wundinfektion

- postoperative oberflächliche Wundinfektion

Infektion an der Inzisionsstelle innerhalb von 30 Tagen nach der Operation, die nur Haut oder subkutanes Gewebe einbezieht und eines der folgenden Kriterien erfüllt:

- eitrige Sekretion aus der oberflächlichen Inzision
- kultureller Nachweis eines Mikroorganismus aus einem aseptisch entnommenen Wundsekret oder einer Gewebekultur an der oberflächlichen Inzision
- eines der folgenden Anzeichen - Dolor, Tumor, Rubor, Calor oder der Chirurg eröffnet die oberflächliche Inzision bewusst - es sei denn, es liegt eine negative Kultur vor
- Diagnose des behandelnden Arztes

- Tiefe postoperative Wundinfektion

Hierbei handelt es sich um eine Infektion, welche innerhalb von 30 Tagen nach der Operation auftritt und mit der Operation in Verbindung zu stehen scheint. Sie erfasst die

Faszienschichten und das Muskelgewebe. Außerdem muss eines der folgenden Kriterien erfüllt sein:

- eitrige Sekretion aus dem tiefen Einschnitt
- spontan oder vom Chirurgen bewusst eröffnet, wenn der Patient mindestens eines der nachfolgenden Symptome hat: Fieber  $> 38\text{ °C}$ , lokalisierter Schmerz oder Empfindlichkeit, es sei denn es liegt eine negative Kultur vor
- Abszess oder sonstige Zeichen der Infektion bei der klinischen Untersuchung, während einer erneuten Operation, bei der histopathologischen Untersuchung oder bei radiologischen Untersuchungen
- Diagnose des behandelnden Arztes

### Harnwegsinfektion

Hierbei handelt es sich um Infektionen, die folgende Kriterien erfüllen:

1. Eines der folgenden Anzeichen ohne andere erkennbare Ursache:

- Fieber ( $> 38\text{ °C}$ )
- Harndrang
- Miktionsfrequenz
- Dysurie oder suprapubische Missempfindungen und eine Urinkultur von  $> 10^5$  Kolonien/ml Urin mit nicht mehr als zwei Arten von Mikroorganismen.

2. Zwei der folgenden Symptome:

- Fieber ( $> 38\text{ °C}$ )
- Harndrang
- Miktionsfrequenz
- Dysurie oder suprapubische Missempfindungen

und eines der folgenden Anzeichen:

- Harnteststreifen für Leukozytenesterase und/ oder Nitrat positiv
- Pyurie ( $> 10$  Leukozyten/ml oder  $> 3$  Leukozyten/Gesichtsfeld bei 1.000facher Vergrößerung im nicht zentrifugierten Urin)
- Bei Gram-Färbung einer nicht zentrifugierten Urinprobe Nachweis von Mikroorganismen
- zwei Urinkulturen mit wiederholter Isolierung des gleichen Uropathogens mit  $> 10^2$  koloniebildenden Einheiten (KBE) /ml Urin im Katheterurin

- Urinkultur mit  $< 10^5$  KBE/ml Urin einzelner Uropathogene bei Patienten, die mit der entsprechenden antimikrobiellen Therapie behandelt werden
- Diagnose des Arztes
- Arzt beginnt entsprechende antimikrobielle Therapie

### Sinusitis

Dies ist Infektion, die einem der folgenden Kriterien entsprechen muss:

1. kultureller Nachweis von Erregern im eitrigem Sekret der Nasennebenhöhle
2. eines der folgenden Anzeichen ohne andere erkennbare Ursachen
  - Fieber ( $> 38$  °C)
  - Schmerz oder Empfindlichkeit im Bereich der betroffenen Nebenhöhle
  - Kopfschmerzen
  - Eitriges Exsudat
  - Obstruktion der Nase

Und mindestens eines der folgenden Kriterien:

- Diaphonoskopie positiv
- Radiologischer Hinweis auf Infektion

### Nosokomiale Pneumonie

Klinisch wird die nosokomiale Pneumonie über den Nachweis eines neuen und persistierenden Infiltrats im Röntgenbild des Thorax diagnostiziert, wenn zusätzlich mindestens zwei der folgenden Kriterien zutreffen:

- Fieber  $> 38$  °C oder Hypothermie  $< 36$  °C
- Leukozytose ( $< 12 \times 10^9/l$ )
- Purulentes Bronchialsekret

### SIRS

Beim SIRS liegt eine Veränderung der klinischen Parameter Körpertemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz und Leukozytenzahl vor. Ursache ist eine generalisierte inflammatorische Reaktion, die eine unbalancierte Ausschüttung pro- und antiinflammatorischer Zytokine beinhaltet. Sie kann durch verschiedene Stimuli wie Traumata und nichtinfektiöse Entzündungen ausgelöst werden [53].

SIRS wurde diagnostiziert, wenn mindestens zwei der folgenden Symptome bestanden:

- Körpertemperatur  $> 38$  °C oder  $< 36$  °C
- Herzfrequenz  $> 90/min$

- Atemfrequenz  $> 20/\text{min}$  oder  $\text{PaCO}_2 < 32\text{mmHG}$
- Leukozyten  $> 12.000/\mu\text{l}$  oder  $< 4.000/\mu\text{l}$  oder  $> 10\%$  unreife Neutrophile

### Sepsis

Wird SIRS durch eine Infektion hervorgerufen, spricht man von einer Sepsis. Zusätzlich zu den SIRS-Kriterien liegt eine systemische Toxizität oder eine schlechte Organperfusion mit mindestens zwei der folgenden charakteristischen Merkmale vor:

- Akutes Nierenversagen (Oligurie  $< 0,5\text{ml/kg/h}$ )
- Erhöhtes Plasmalaktat ( $> 1,8\text{mmol/l}$ )
- Herzindex  $> 4,0\text{l/min/m}^2$
- Metabolische Azidose ( $\text{pH} < 7,3$  oder Basendefizit  $> 5$ )
- Arterielle Hypoxie:  $\text{PaO}_2 < 75\text{mmHg}$
- Thrombopenie ( $< 100.000/\text{ml}$  oder Abfall von 50% vom Ausgangswert)
- Gerinnungsstörungen ( $\text{INR} > 1,5$  oder  $\text{aPTT} > 60\text{s}$ )
- Plötzlicher Abfall des Glasgow Coma Scale
- Arterielle Hypotension mit folgender Definition:
  - Systolischer Blutdruck  $< 90\text{mmHg}$
  - anhaltender Blutdruckabfall von  $40\text{mmHg}$  mit entsprechendem Flüssigkeitsbedarf ohne Antihypertensiva
  - Therapie mit Vasopressoren, um den Blutdruck  $> 90\text{mmHg}$  zu halten
- Sepsis als Diagnose ist mit dem klinischen Bild vereinbar

## **5.6 Statistik**

Mit Hilfe des Statistik Programm-Paketes IBM© SPSS© Statistics (Version 20, © Copyright 1989, 2010 SPSS Inc., an IBM Company) und SAS (Version 9.1, Copyright© by SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) wurden die Daten analysiert und dargestellt.

Alle Zielgrößen (primäre und sekundäre) wurden zunächst mit Methoden der explorativen Datenanalyse untersucht und deskriptiv ausgewertet. Insbesondere wurden statistische Maßzahlen wie Mittelwert und Standardabweichung (SD) (metrisch skalierte und normal- bzw. symmetrisch verteilte Merkmale), Median und Interquartilsdifferenz (kategoriale und nicht

normal- bzw. symmetrisch verteilte metrische Merkmale) bzw. Häufigkeiten und Proportionen (qualitative Merkmale) ermittelt.

Auf Grund der geringen Fallzahl und wegen möglicher Abweichungen von der Normalverteilung wurde für Vergleiche von metrischen Variablen in unabhängigen Gruppen stets der exakte nichtparametrische Mann-Whitney-Test angewandt. Beim Vergleich von Häufigkeitsdaten wurde der exakte Chi-Quadrat-Test bzw. der exakte Test nach Fisher durchgeführt. Ausgewählte statistische univariate Tests wurden bei erreichter Signifikanz durch entsprechende Poweranalysen ergänzt.

Der Verlauf der HLA-DR-Expression wurde über den gesamten Beobachtungszeitraum mit Hilfe der multivariaten nichtparametrischen Analyse für longitudinale Daten (MANOVA) nach Brunner in einem zweifaktoriellen Design (1.Faktor (unabhängig): Behandlung, 2. Faktor (abhängig): zeitliche Wiederholungen) analysiert. In der nichtparametrischen longitudinalen Analyse werden folgende Hypothesen getestet:

1. Unterschiede zwischen den Gruppen (über die Zeit) [gruppe],
2. Systematische Änderungen in der Zeit (über die Gruppen) [zeit],
3. Wechselwirkungen zwischen Gruppenunterschieden und Zeit [gruppe\*zeit], d.h. sind Gruppenunterschiede in speziellen Zeitabschnitten besonders ausgeprägt bzw. ändern sich mögliche Unterschiede zwischen den Gruppen über die Zeit,
4. Systematische Änderungen in der Zeit für jede Gruppe einzeln [MANOVA für jede Gruppe].

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

Als zweizeitiges Signifikanzniveau wurde  $p < 0,05$  festgelegt. Die erzielten p-Werte für alle Endpunkte verstanden sich als explorativ, d.h. ließen keine konfirmative Verallgemeinerung zu. Aus diesem Grunde erfolgte auch keine  $\alpha$ -Adjustierung für multiples Testen.

## 6 Ergebnisse

### 6.1 Basischarakteristika

Bei den Basischarakteristika zeigten sich signifikante Unterschiede hinsichtlich des Body-Mass-Index (BMI) der Patientengruppen. Männer hatten einen mittleren BMI von 26,9 kg/m<sup>2</sup>, bei Frauen betrug der mittlere Wert 23,9 kg/m<sup>2</sup>. Des Weiteren wurden die Frauen tendenziell häufiger nach ASA III und IV klassifiziert. Ansonsten gab es keine Unterschiede der Basischarakteristika zwischen den Patientengruppen.

	<b>Männer (n = 21)</b>	<b>Frauen (n = 17)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Alter in Jahren</b> [Mittelwert (SD)]	62,1 (±11,1)	64,1 (±13,9)	0,411 <sup>1</sup>
<b>BMI in kg/m<sup>2</sup></b> [Mittelwert (SD)]	26,9 (±3,0)	23,9 (±2,8)	<b>0,003<sup>1</sup></b>
<b>Pankreas-/Ösophagusresektion</b> [n (%)]	10 / 11 (47,6 / 64,7)	11 / 6 (52,4 / 35,3)	0,342 <sup>2</sup>
<b>ASA I und II/III und IV</b> [n (%)]	18 / 3 (64,3 / 30,0)	10 / 7 (35,7 / 70,0)	0,078 <sup>1</sup>
<b>Schmerzen in Ruhe (NAS) POD-1</b> [Mittelwert (SD)]	0,76 (±1,3)	1,24 (±2,3)	0,944 <sup>1</sup>
<b>Schmerzen bei Belastung (NAS) POD-1</b> [Mittelwert (SD)]	1,19 (±2,0)	1,59 (±2,9)	0,995 <sup>1</sup>
<b>Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) POD-1</b> [Mittelwert (SD)]	2,90 (±2,9)	1,71 (±3,2)	0,118 <sup>1</sup>
<b>Raucher/Nichtraucher</b> [n (%)]	7 / 14 (50,0 / 58,3)	7 / 10 (50,0 / 41,7)	0,740 <sup>2</sup>

**Tabelle 1: Basischarakteristika** <sup>1</sup>: Exakter Mann-Whitney-U-Test, <sup>2</sup>: Exakter Test nach Fisher

## 6.2 Primärziel

### 6.2.1 Einfluss des Geschlechts auf die HLA-DR-Expression

Am OD lagen die Mittelwerte der HLA-DR-Expression bei Männern und Frauen bei 35237 AG/M bzw. 42216 AG/M. Am ersten und zweiten postoperativen Tag (POD1, POD2) fiel die Expression von HLA-DR stark ab. Am POD2 war der mittlere Wert bei Männern (6836 AG/M) und Frauen (8156 AG/M) am niedrigsten. Von POD3 bis POD5 stieg die mittlere HLA-DR-Expression wieder an. Dieser Anstieg verlief bei den Frauen stärker als bei den Männern. Männer hatten eine durchschnittliche Expression von 9942 AG/M und Frauen von 15045 AG/M am letzten gemessenen Untersuchungstag (POD5).

Einen signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen ergab der durchgeführte exakte Mann-Whitney-U-Test für POD3 ( $p = 0,042$ ) und POD4 ( $p = 0,042$ ). Am POD5 kam es zu einem Unterschied, der mit einem p-Wert von 0,004 für hochsignifikant erklärt wurde.

	<b>Männer (n = 21)</b>	<b>Frauen (n = 17)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>OD HLA-DR [AG/M]</b>			
<i>[Mittelwert (SD)]</i>	<b>35.237,1</b> ( $\pm 11822,8$ )	<b>42.215,7</b> ( $\pm 13.084,0$ )	0,136 <sup>1</sup>
<i>[Median (25. Perzentile – 75. Perzentile)]</i>	<b>36.629,0</b> (28.773,5 – 43.532,0)	<b>40.542,0</b> (34.244,5 – 50.009,0)	
<b>POD1 HLA-DR [AG/M]</b>			
<i>[Mittelwert (SD)]</i>	<b>8.707,2</b> ( $\pm 3.166,0$ )	<b>9626,1</b> ( $\pm 3.231,0$ )	0,514 <sup>1</sup>
<i>[Median (25. Perzentile – 75. Perzentile)]</i>	<b>9.020,0</b> (5.559,0 – 11.194,0)	<b>6.685,5</b> (2253,0 – 8.623,5)	
<b>POD2 HLA-DR [AG/M]</b>			
<i>[Mittelwert (SD)]</i>	<b>6.836,0</b> ( $\pm 2.824,2$ )	<b>8.156,4</b> ( $\pm 3.066,7$ )	0,187 <sup>1</sup>
<i>[Median (25. Perzentile – 75. Perzentile)]</i>	<b>6.674,0</b> (4.958,3 – 8.133,0)	<b>7.838,0</b> (6.083,5 – 10.056,5)	
<b>POD3 HLA-DR [AG/M]</b>			
<i>[Mittelwert (SD)]</i>	<b>7.863,2</b> ( $\pm 3.239,6$ )	<b>10.674,9</b> ( $\pm 4.594,7$ )	<b>0,042<sup>1</sup></b>
<i>[Median (25. Perzentile – 75. Perzentile)]</i>	<b>7.274,0</b> (5.892,5 – 9.775,5)	<b>9.485,0</b> (7.394,3 – 15.540,3)	
<b>POD4 HLA-DR [AG/M]</b>			
<i>[Mittelwert (SD)]</i>	<b>9.576,6</b> ( $\pm 4.990,1$ )	<b>13.181,2</b> ( $\pm 5.582,3$ )	<b>0,042<sup>1</sup></b>
<i>[Median (25. Perzentile – 75. Perzentile)]</i>	<b>9.226,5</b> (5.464,8 – 13.570,8)	<b>11.829,0</b> (8.610,0 – 17.938,5)	

<b>POD5 HLA-DR [AG/M]</b>			
<i>[Mittelwert (SD)]</i>	<b>9.942,4</b> ( $\pm 4.838,1$ )	<b>15.045,3</b> ( $\pm 5.252,2$ )	<b>0,004<sup>1</sup></b>
<i>[Median</i>	<b>9.126,5</b>	<b>14.726,0</b>	
<i>(25. Perzentile – 75. Perzentile)]</i>	(6.090,0 – 12.960,0)	(11.091,0 – 20.327,0)	

**Table 2: HLA-DR-Expression an OD - POD5**<sup>1</sup>: Exakter Mann-Whitney-U-Test

Sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Patienten zeigte der Wilcoxon-Test für Paarvergleich mit der Monte-Carlo-Signifikanzschätzung einen signifikanten HLA-DR-Abfall (jeweils  $p < 0,001$ ) von OD – POD1 bzw. von OD – POD2.

	<b>OD – POD1</b>	<b>OD – POD2</b>	<b>POD1 – POD2</b>
<b>p-Wert Männer</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,003</b>
<b>p-Wert Frauen</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,017</b>

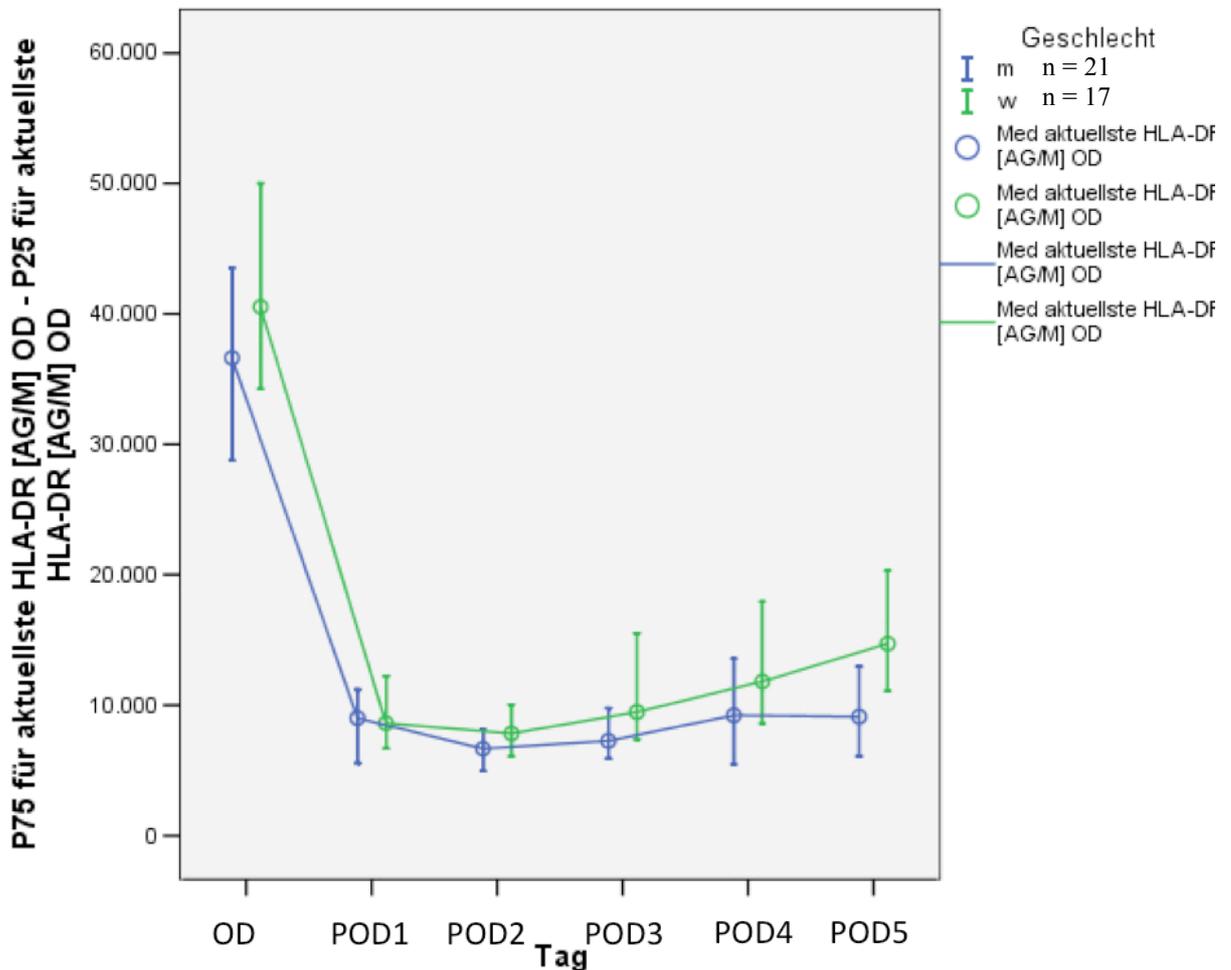
**Table 3: HLA-DR-Abfall OD - POD2**

### 6.2.2 Multivariate nichtparametrische Varianzanalyse (MANOVA)

Die multivariate nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten zeigte, dass es bei der postoperativen HLA-DR-Expression signifikante Unterschiede im gesamten Zeitverlauf zwischen Männern und Frauen gab ( $p = 0,03$ ). Außerdem konnte ein systematischer Zeiteinfluss der HLA-DR-Expression über die Gruppen an den Untersuchungstagen OD – POD5 in Form eines starken Abfalls zu Beginn und leichten Wiederanstiegs nach POD2 beschrieben werden ( $p < 0,001$ ) (vgl. **Abbildung 4**). Es zeigte sich eine Tendenz ( $p = 0,07$ ), dass sich die Unterschiede der HLA-DR-Expression im Laufe der Zeit änderten.

	<b>p-Wert</b>
<b>Geschlecht</b>	<b>0,02971</b>
<b>Zeit</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Geschlecht*Zeit</b>	<b>0,06958</b>

**Table 4: Ergebnisse der MANOVA**



**Abbildung 4: HLA-DR-Expression von Männern und Frauen OD – POD5**

Sowohl bei Männern als auch bei Frauen zeigte der zeitliche Verlauf in der Expression von HLA-DR im Zeitraum OD – POD5 eine systematische Änderung (jeweils  $p < 0,001$ ), wobei der Anstieg von HLA-DR ab POD2 bei den Frauen stärker war.

	Geschlecht	p-Wert
MANOVA	Männer	$< 0,001$
MANOVA	Frauen	$< 0,001$

**Tabelle 5: MANOVA Männer und Frauen**

Es bleibt festzuhalten, dass die HLA-DR-Expression über die Zeit in den Gruppen einen signifikanten Unterschied aufwies, wobei die HLA-DR-Werte am OD (und am POD1) keine signifikanten Unterschiede zeigten (vgl. **Tabelle 2**).

Bei univariater Betrachtung der Power bei den Testentscheidungen an den Tagen, an denen sich Signifikanzen feststellen ließen, ergab sich folgendes Bild: An POD3 folgte eine Power von 57 %, an POD4 von 52 % und an POD5 eine Power von 82 %.

### **6.2.3 Multivariate nichtparametrische Kovarianzanalyse (MANCOVA)**

Da der BMI die einzige Variable ist, welche bei den Basischarakteristika einen signifikanten Unterschied zeigte (vgl. **Tabelle 1**), wurde eine weitere nichtparametrische Analyse für longitudinale Daten in Form einer Kovarianzanalyse mit dem BMI als Kovariate durchgeführt. In dieser Analyse blieb der signifikante Gruppenunterschied nicht erhalten ( $p = 0,112$ ), allerdings war auch der Einfluss der Kovariaten BMI nicht signifikant in Bezug auf den Zeitverlauf der HLA-DR-Expression ( $p = 0,425$ ), lediglich die systematische zeitliche Änderung wurde bestätigt ( $p < 0,001$ ).

In Anbetracht des multivariat nicht signifikanten Einflusses des BMI auf den HLA-DR-Verlauf und bei einem gewissen Trend im Unterschied der Gruppen über die Zeit, einschließlich der deutlich univariat signifikanten Unterschiede ab POD3 zwischen Männern und Frauen darf man damit rechnen, dass bei einer genügend großen Fallzahl und damit ausreichender Power ein Gruppenunterschied nachgewiesen werden könnte. Die nachfolgende Grafik der um BMI adjustierten relativen Effekte für HLA-DR unterstreicht diese Argumentation.

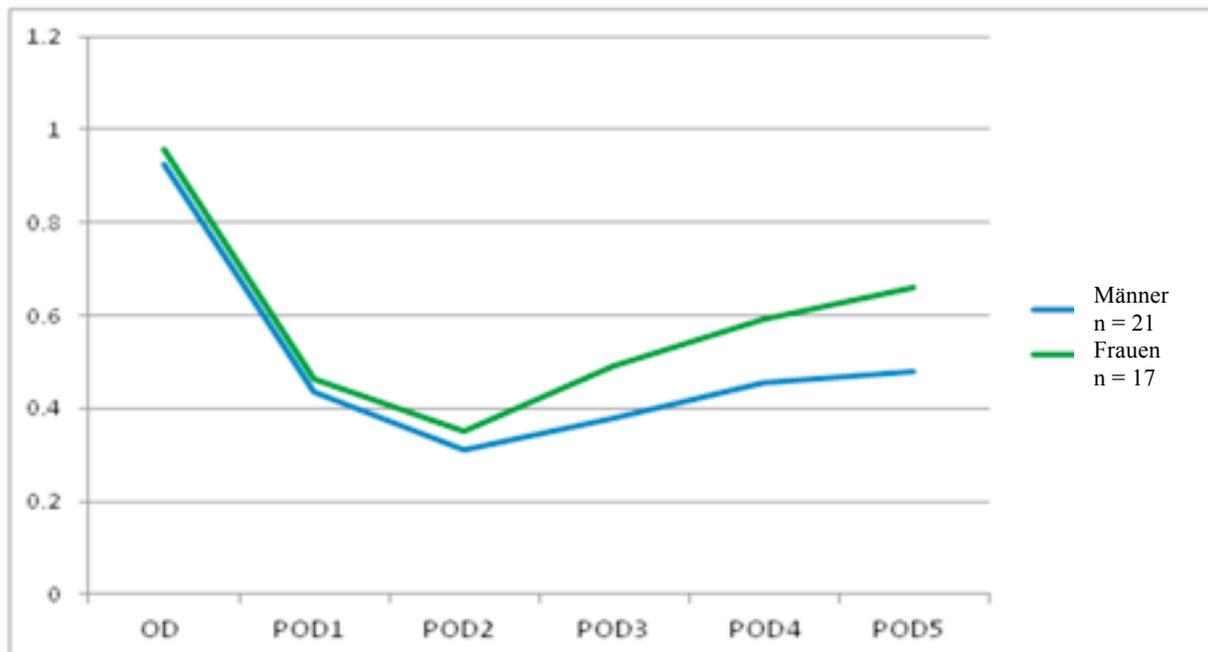


Abbildung 5: Um BMI adjustierte Effekte bezüglich HLA-DR

## 6.3 Sekundärziel

### 6.3.1 Einfluss des Geschlechts auf die Infektionsrate

Die Infektionsrate wurde univariat mit dem exakten Chi-Quadrat-Test und mit Bezug auf das Geschlecht analysiert. Insgesamt wurden die Daten von 38 Patienten bearbeitet. 17 Patienten erkrankten postoperativ an einer Infektion, insgesamt 47,6 % der Männer und 41,2 % der Frauen. Ein Geschlechterunterschied war jedoch nicht signifikant, allerdings ist diese Aussage wegen der geringen Fallzahl wenig aussagekräftig (Power von 3 %).

	Männer (n = 21)	Frauen (n = 17)	p-Wert
Infektionen [n/%]	10 / 47,6	7 / 41,2	0,752

Tabelle 6: Einfluss auf Infektionsrate (univariate Auswertung)

### 6.3.2 Einfluss des Geschlechts auf SIRS

Mit dem exakten Chi-Quadrat-Test wurde zusätzlich SIRS univariat bezüglich des Geschlechts analysiert. Von 38 Patienten entwickelten 20 postoperativ ein SIRS, 52,4 % der Männer und 52,9 % der Frauen. Es zeigte sich jedoch keine Signifikanz bezüglich des Geschlechts. Auch diese Aussage ist wegen der geringen Fallzahl wenig aussagekräftig (Power von 2 %).

	<b>Männer (n = 21)</b>	<b>Frauen (n = 17)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>SIRS [n/%]</b>	11 / 52,4	9 / 52,9	1,000

*Tabelle 7: Einfluss auf SIRS (univariate Auswertung)*

### 6.3.3 Einfluss des Geschlechts auf die Infektionsrate oder SIRS oder beides

Abschließend wurde der Einfluss des Geschlechts auf SIRS oder Infektionsrate oder beides univariat mit dem exakten Chi-Quadrat-Test analysiert. Bei 24 Patienten, davon 66,7 % der Männer und 58,8 % der Frauen, wurden postoperativ entweder eine Infektion oder SIRS oder beides diagnostiziert, wobei sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zeigten. Mit einer Power von 4 % ist diese Aussage wegen der geringen Fallzahl jedoch ebenfalls wenig aussagekräftig.

	<b>Männer (n = 21)</b>	<b>Frauen (n = 17)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>SIRS oder Infektionen oder beides [n/%]</b>	14 / 66,7	10 / 58,8	0,740

*Tabelle 8: Einfluss auf SIRS oder Infektionsrate (univariate Auswertung)*

## 7 Diskussion

### 7.1 Studienergebnisse

Hauptergebnis dieser Arbeit war eine systematische zeitliche Änderung der postoperativen HLA-DR-Expression insgesamt und in jeder Gruppe (Männern und Frauen). Der HLA-DR-Abfall war bei beiden Gruppen signifikant vom Operationstag bis zum zweiten postoperativen Tag, wobei der Anstieg von HLA-DR nach dem zweiten postoperativen Tag bei den Frauen stärker ausfiel. Außerdem gab es einen statistisch signifikanten Unterschied der postoperativen HLA-DR-Expression über die gesamten analysierten Zeitraum (multivariat) und an den Untersuchungstagen POD3 bis POD5 (univariat) zwischen Männern und Frauen nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion.

Es gab keine signifikanten Unterschieden zwischen Männern und Frauen nach der Resektion des Pankreas oder des Ösophagus bezüglich der postoperativen Infektionsrate und SIRS oder beidem, wobei dies nur ein sekundäres Untersuchungsziel war und die Powerberechnung für diese Aussage nicht ausreichend ist.

### 7.2 Basischarakteristika

Ein hohes Alter, ein hoher BMI, die Operationsart, präoperative Schmerzen sowie die ASA Klassifikation, Rauchen und Alkohol sind bekannte Risikofaktoren für eine Verschlechterung des postoperativen Verlaufs [16, 24, 26, 27, 30, 54]. In dieser Arbeit wiesen die klinisch-demographischen Basischarakteristika lediglich im BMI signifikante Unterschiede zwischen den Patientengruppen auf. Die männlichen Patienten (n = 21) hatten einen mittleren BMI von 26,9 kg/m<sup>2</sup> im Gegensatz zu den weiblichen Patienten (n = 17) von 23,9 kg/m<sup>2</sup>. Die World Health Organisation (WHO) spricht bei einem BMI > 25 kg/m<sup>2</sup> bis ≤ 30 kg/m<sup>2</sup> von Übergewicht und bei einem BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> von Adipositas [55]. Die männlichen Patienten können demnach durchschnittlich als übergewichtig eingestuft werden. Drei Männer und eine Frau hatten einen BMI > 30 kg/m<sup>2</sup>, der vor allem als wichtiger Risikofaktor für postoperative Infektionen gilt [56, 57]. Demnach ist die zusätzliche Beeinflussung der HLA-DR-Expression und des postoperativen Verlaufs durch den BMI in dieser Arbeit nicht auszuschließen.

Zusätzlich hatten die Frauen tendenziell häufiger ( $p = 0,078$ ) ein ASA Stadium III und IV im Vergleich zu den Männern. Bei höherem ASA Stadium ist eine höhere Frequenz für postoperative Wundinfektionen beschrieben [27], wobei dieses Ergebnis bei dem von mir beschriebenen Patientenkollektiv nicht zu finden war. Alle anderen Parameter haben die untersuchten Gruppen ebenso wenig beeinflusst.

## **7.3 HLA-DR-Expression**

### **7.3.1 Postoperativer Abfall von HLA-DR**

Nach operativen Eingriffen wurde mehrfach ein Abfall der HLA-DR-Expression beschrieben [8-10, 14, 35-38, 40-44].

Ono et al. untersuchten die HLA-DR-Expression bei Patienten, die eine Gastrektomie erhielten. In ihrer Studie konnten sie zeigen, dass nur die männlichen Patienten einen signifikanten Abfall der monozytären HLA-DR-Expression am ersten postoperativen Tag aufweisen [42].

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass es nach Pankreas- und Ösophagusresektion sowohl bei Männern als auch bei Frauen zu einer systematischen Änderung der HLA-DR-Expression kam. Von OD bis POD2 fiel der HLA-DR-Wert bei beiden Gruppen zunächst signifikant ab. Die niedrigsten Mittelwerte wurden, vergleichbar zur Studie von Asadullah et al., in der die Patienten nach neurochirurgischen Eingriffen beobachtet wurden, am POD2 notiert [58]. Anschließend exprimierten beide Gruppen wieder vermehrt HLA-DR. Bei den Frauen fiel dieser Anstieg allerdings stärker aus.

Der Abfall von HLA-DR könnte auch in dieser Arbeit durch Störfaktoren beeinflusst worden sein, die nicht in den Basischarakteristika beachtet wurden, beispielsweise durch die Tumorklassifikation bei entsprechender Grunderkrankung oder durch die OP-Zeit. Das Infektionsrisiko steigt in der Literatur mit der Operationsdauer über zwei Stunden stetig an [59]. Dies könnte zwar auch für die HLA-DR-Expression von Bedeutung sein, allerdings unterschied sich die Tumorklassifikation in meinem Patientenkollektiv nicht und die durchgeführten Operationen waren alle große Eingriffe, die im Mittel über zwei Stunden dauerten.

Von POD3 bis POD5 nahm die Expression von HLA-DR wieder zu. Die Ausgangswerte konnten innerhalb des Beobachtungszeitraums jedoch noch nicht erreicht werden. Kawasaki et al. beschrieben unter anderem eine Normalisierung der HLA-DR-Werte am siebten postoperativen Tag [41, 60, 61]. Dies konnte im Rahmen unserer Studie allerdings nicht nachgewiesen werden, da die HLA-DR-Expression nur bis zum POD5 gemessen wurde.

### 7.3.2 Geschlechterunterschiede bei der HLA-DR-Expression

Ono et al. untersuchten 25 Patienten (16 männlich, 9 weiblich) nach Gastrektomie vor und nach der Operation unter anderem bezüglich der HLA-DR-Expression und der postoperativen Komplikationen wie Infektionen und SIRS [42]. In der vorliegenden Arbeit wurde die HLA-DR-Expression von 38 Patienten (21 männlich, 17 weiblich) vor bzw. nach Pankreas- oder Ösophagusresektion von OD bis POD5 beobachtet. Ein weiterer Unterschied lag im Alter der Patienten. Während die Studienteilnehmer von Ono et al.  $\leq 55$  Jahre alt waren, betrug das Alter der Männer und Frauen dieser Studie  $\geq 54$  Jahre.

Sowohl die Studie von Ono et al. als auch diese Arbeit zeigten keinen geschlechtsspezifischen Unterschied in der HLA-DR-Expression vor dem operativen Eingriff [42]. Unsere Untersuchungen ergaben einen durchschnittlichen präoperativen HLA-DR-Wert bei den männlichen Patienten von 35.237 AG/M und bei den weiblichen Patienten von 42.216 AG/M. Keiner dieser Patienten zeigte eine präoperative HLA-DR-Expression  $\leq 10.000$  AG/M. Aus der Studie von Ono et al. gehen diesbezüglich keine vergleichbaren Zahlen hervor. Sie zeigten lediglich bei den männlichen Studienteilnehmern einen signifikanten HLA-DR-Abfall [42]. In unserer Studie wiesen dagegen alle Patienten einen signifikanten Abfall auf.

Am ersten postoperativen Tag beschreiben Ono et al. einen signifikanten Unterschied in der HLA-DR-Expression zwischen Männern und Frauen. Über einen längeren Zeitraum wurde das Verhalten von HLA-DR jedoch nicht notiert. In unserer Studie war die HLA-DR-Expression der Frauen an allen Untersuchungstagen höher als die der Männer. Jedoch erst am POD3 und POD4 waren die Unterschiede statistisch signifikant und am POD5 hochsignifikant. Mit einer Power von 82 % ist der Unterschied am POD5 aussagekräftig. Versteht man HLA-DR als prädiktiven Marker, könnten die Männer somit ein größeres Risiko einer postoperativen Infektion oder SIRS haben, wobei ich dies bei meiner darauf nicht-gepowerten Studie nicht finden konnte.

Als Ursache für die widersprüchlichen Ergebnisse meiner Studie und der von Ono et al. könnte das unterschiedliche Patientenalter diskutiert werden [42]. Wu et al. konnten in ihrer Arbeit

zeigen, dass Patienten  $\geq 70$  Jahre nach Stimulation mit Lipopolysacchariden (LPS) vermehrt HLA-DR-Moleküle auf den Monozyten exprimieren [62]. Dadurch lässt sich zwar weder der Unterschied zwischen dieser Arbeit und der von Ono et al. im postoperativen Abfall der HLA-DR-Expression, noch die Differenzen des zeitlichen Eintritts der signifikant unterschiedlichen HLA-DR-Expression zwischen den Geschlechtern erklären. Dieses Problem kann aber als Anstoß für die Entwicklung zukünftiger Studien verstanden werden.

#### **7.4 Geschlechterunterschiede im postoperativen Verlauf**

Bei Männern wurde in früheren Publikationen eine höhere Anfälligkeit für postoperative Komplikationen beschrieben [19, 20]. Frauen sterben dagegen häufiger an Komplikationen, wenn sie diese erleiden [22, 63]. Ono et al. konnten in ihrer Studie allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen bezüglich des postoperativen Verlaufs nachweisen [42].

In der vorliegenden Arbeit wurden Infektionen des unteren Respirationstraktes, postoperative Wundinfektionen, Harnwegsinfektionen, Sinusitiden und nosokomiale Pneumonien, sowie SIRS geschlechtervergleichend untersucht. 17 Patienten, 47,6 % der Männer und 41,2 % der Frauen, erlitten eine postoperative Infektion. An SIRS erkrankten nach dem operativen Eingriff 18 Patienten, insgesamt 52,4 % der männlichen und 52,9 % der weiblichen Teilnehmer. Insgesamt 24 Patienten entwickelten postoperativ eine Infektion oder SIRS oder zeigten beide Krankheitsbilder auf (66,7 % der Männer / 58,8 % der Frauen). Die Ergebnisse dieser Arbeit liefern damit keinen signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen bezüglich der postoperativen Infektionsrate und SIRS nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion. Allerdings könnte das Vorliegen von internistischen Komorbiditäten, wie sich in der Tendenz in den bei Frauen höheren ASA-Klassen zeigte, als zusätzlicher Risikofaktor die postoperativen Komplikationen beeinflusst haben [27, 64]. Dieser Nachweis ist mit der vorliegenden kleinen Fallzahl und der damit sehr geringen Power nicht zu führen.

## 7.5 HLA-DR als prädiktiver Marker für postoperative Infektionen

Bisherige Arbeiten haben die HLA-DR-Expression kontrovers als prädiktiven Marker für postoperative Infektionen diskutiert [7-12, 31, 35, 42, 44-47].

In der vorliegenden Studie wiesen die weiblichen Patienten nach dem chirurgischen Eingriff mehr monozytäre Oberflächenmoleküle auf als die männlichen Patienten. Dies lässt ein größeres Risiko für postoperative Komplikationen bei den Männern vermuten. In der Tendenz könnte sich auch diese Tatsache bestätigen, wenn man berücksichtigt, dass bei einem Drittel der Frauen höhere ASA-Klassen vorlagen, wobei sich diese Klassen nur tendenziell von denen der Männer unterschieden. Ein signifikanter Geschlechterunterschied im Auftreten einer postoperativen Infektion oder SIRS wurde in meiner Studie jedoch nicht nachgewiesen. Damit bleiben mehrere Interpretationsmöglichkeiten. Es könnte nach Pankreas- oder Ösophagusresektion kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem HLA-DR-Abfall und der Infektions- bzw. SIRS-Rate zu finden sein, wie es auch die aktuellsten Studien zu diesem Thema beschreiben [44, 46, 47]. Es könnte aber auch einfach eine nicht ausreichende Teststärke für die Aussage zu einem negativen Ergebnis gekommen sein.

Als weitere Ursache für diese gegensätzlichen Ergebnisse könnte das unterschiedliche Patientenkollektiv der Studien diskutiert werden, das von Patienten, die sich einer elektiven Gastrektomie [42] unterzogen, bis hin zu schwerkranken Sepsis-Patienten [65] reicht. Nur Lukaszewicz et al. untersuchten Patienten, die sich aufgrund unterschiedlicher Ursachen auf der Intensivstation befanden und konnten zeigen, dass Patienten mit einem schwächeren HLA-DR-Anstieg nach primärem postoperativem Abfall ein höheres Risiko für Infektionen aufzeigten [46]. Außerdem sind auch in Bezug auf diese Fragestellung die Aussagen durch teilweise kleine Patientenkollektive der Studien eingeschränkt.

## 7.6 Limitationen der Studie

Das Studiendesign ist eine der wichtigsten Limitationen dieser Arbeit. Die ART-VI-Studie ist aufgrund der bis dato geringen Kenntnisse als Pilotstudie geplant worden. Deshalb konnte bei der Untersuchung auf Geschlechterunterschiede in der HLA-DR-Expression nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion nur auf ein kleines Patientenkollektiv zurückgegriffen

werden. Dennoch konnten signifikante Unterschiede zwischen Männern (n = 21) und Frauen (n = 17) in der postoperativen HLA-DR-Expression gezeigt werden. Um diese Aussage zu bekräftigen, sollten in Zukunft weitere prospektive Studien mit größerer Fallzahl geplant werden.

Der Beobachtungszeitraum stellt zusätzlich eine Einschränkung dar. Die HLA-DR-Werte wurden bis POD5 abgenommen, laut einigen Studien zeigt sich aber erst eine Normalisierung des Wertes am siebten postoperativen Tag [41, 60, 61]. Die Infektionen und SIRS wurden bis POD9 dokumentiert. Infektionen, die danach begonnen haben, fanden in der Studie keine Beachtung.

Außerdem wurden Patienten nach Pankreas- und Ösophagusresektion eingeschlossen. Da das chirurgische Trauma bei Ösophagusresektionen grundsätzlich höher ist, könnte dies Auswirkungen auf die postoperative HLA-DR-Expression und die Infektionsrate gehabt haben.

Kritisch zu hinterfragen ist der Placebo-Effekt bei den Patienten der Placebogruppe. Obwohl sie kein Verum bekommen haben, könnte der Einschluss in die Studie und die Annahme ein Medikament zu bekommen, Einfluss auf die HLA-DR-Expression und das Auftreten einer postoperativen Komplikation gehabt haben.

## 7.7 Schlussfolgerung

In dieser Arbeit konnte sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen ein signifikanter postoperativer HLA-DR-Abfall gezeigt werden. Frauen hatten über den gesamten Beobachtungszeitraum eine höhere HLA-DR-Expression, die sich vom POD3 bis POD5 signifikant von der Expression der Männer unterschied. Ob die HLA-DR-Expression als prädiktiver Marker für postoperative Komplikationen zu bewerten ist, bleibt in dieser Studie offen. Der Mechanismus des HLA-DR-Abfalls ist noch nicht vollständig erforscht und die Funktion von monozytärem HLA-DR als prädiktiver Faktor wird kontrovers diskutiert. Ich konnte keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen bezüglich der postoperativen Infektionen und SIRS feststellen. Abschließend ist eine endgültige Bewertung dieser Ergebnisse hinsichtlich der klinischen Relevanz aufgrund des für dieses sekundäre Ziel nicht ausreichenden Patientenkollektivs nicht möglich und sollte ein Anlass für zukünftige Studien mit entsprechender Fallzahl sein.

## 8 Literaturverzeichnis

1. *Statistisches Bundesamt.* [cited 2012 June 11]; Available from: <https://http://www.destatis.de/DE/Publikationen/StatistischesJahrbuch/StatistischesJahrbuchKomplett.pdf?blob=publicationFile>.
2. Gastmeier, P., [*Prevention of nosocomial infections*]. *Chirurg*, 2008. **79**(3): p. 263-72.
3. Gastmeier, P. and C. Geffers, [*Nosocomial infections in Germany. What are the numbers, based on the estimates for 2006?*]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2008. **133**(21): p. 1111-5.
4. Geffers, C., D. Sohr, and P. Gastmeier, *Mortality attributable to hospital-acquired infections among surgical patients*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2008. **29**(12): p. 1167-70.
5. Pittet, D., D. Tarara, and R.P. Wenzel, *Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length of stay, extra costs, and attributable mortality*. *JAMA*, 1994. **271**(20): p. 1598-601.
6. Beyersmann, J., P. Gastmeier, H. Grundmann, et al., *Use of multistate models to assess prolongation of intensive care unit stay due to nosocomial infection*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 2006. **27**(5): p. 493-9.
7. Strohmeyer, J.C., C. Blume, C. Meisel, et al., *Standardized immune monitoring for the prediction of infections after cardiopulmonary bypass surgery in risk patients*. *Cytometry B Clin Cytom*, 2003. **53**(1): p. 54-62.
8. Wakefield, C.H., P.D. Carey, S. Foulds, J.R. Monson, and P.J. Guillou, *Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T cells of patients developing infection after surgery*. *Br J Surg*, 1993. **80**(2): p. 205-9.
9. Volk, T., U.R. Dopfmer, M. Schmutzler, et al., *Stress induced IL-10 does not seem to be essential for early monocyte deactivation following cardiac surgery*. *Cytokine*, 2003. **24**(6): p. 237-43.
10. Ditschkowski, M., E. Kreuzfelder, V. Rebmann, et al., *HLA-DR-Expression and soluble HLA-DR levels in septic patients after trauma*. *Ann Surg*, 1999. **229**(2): p. 246-54.
11. Lekkou, A., M. Karakantza, A. Mouzaki, F. Kalfarentzos, and C.A. Gogos, *Cytokine production and monocyte HLA-DR-Expression as predictors of outcome for patients with community-acquired severe infections*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004. **11**(1): p. 161-7.
12. Docke, W.D., F. Randow, U. Syrbe, et al., *Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment*. *Nat Med*, 1997. **3**(6): p. 678-81.

13. Docke, W.D., C. Hoflich, K.A. Davis, et al., *Monitoring temporary immunodepression by flow cytometric measurement of monocytic HLA-DR-Expression: a multicenter standardized study*. Clin Chem, 2005. **51**(12): p. 2341-7.
14. Flohe, S., S. Lendemans, F.U. Schade, E. Kreuzfelder, and C. Waydhas, *Influence of surgical intervention in the immune response of severely injured patients*. Intensive Care Med, 2004. **30**(1): p. 96-102.
15. Bastian, D., J. Sun, C. Danckert Krohn, and O. Reikeras, *Immune modulation after total hip surgery. A prospective ex vivo study*. Eur Surg Res, 2007. **39**(5): p. 296-302.
16. Wacha, H., *[Wound infections in abdominal surgery: aetiology, risk factors, antibiotic prophylaxis]*. Zentralbl Chir, 2007. **132**(5): p. 400-10.
17. Angele, M.K., M.G. Schwacha, A. Ayala, and I.H. Chaudry, *Effect of gender and sex hormones on immune responses following shock*. Shock, 2000. **14**(2): p. 81-90.
18. Zellweger, R., M.W. Wichmann, A. Ayala, et al., *Females in proestrus state maintain splenic immune functions and tolerate sepsis better than males*. Crit Care Med, 1997. **25**(1): p. 106-10.
19. Offner, P.J., E.E. Moore, and W.L. Biffl, *Male gender is a risk factor for major infections after surgery*. Arch Surg, 1999. **134**(9): p. 935-8; discussion 938-40.
20. Gannon, C.J., M. Pasquale, J.K. Tracy, R.J. McCarter, and L.M. Napolitano, *Male gender is associated with increased risk for postinjury pneumonia*. Shock, 2004. **21**(5): p. 410-4.
21. Eachempati, S.R., L. Hydo, and P.S. Barie, *Gender-based differences in outcome in patients with sepsis*. Arch Surg, 1999. **134**(12): p. 1342-7.
22. Nachtigall, I., S. Tafelski, A. Rothbart, et al., *Gender-related outcome difference is related to course of sepsis on mixed ICUs: a prospective, observational clinical study*. Crit Care, 2011. **15**(3): p. R151.
23. Combes, A., C.E. Luyt, J.L. Trouillet, A. Nieszkowska, and J. Chastre, *Gender impact on the outcomes of critically ill patients with nosocomial infections*. Crit Care Med, 2009. **37**(9): p. 2506-11.
24. Patel, N., B. Bagan, S. Vadera, et al., *Obesity and spine surgery: relation to perioperative complications*. J Neurosurg Spine, 2007. **6**(4): p. 291-7.
25. Spies, C., H. Tonnesen, S. Andreasson, A. Helander, and K. Conigrave, *Perioperative morbidity and mortality in chronic alcoholic patients*. Alcohol Clin Exp Res, 2001. **25**(5 Suppl ISBRA): p. 164S-170S.
26. Theadom, A. and M. Cropley, *Effects of preoperative smoking cessation on the incidence and risk of intraoperative and postoperative complications in adult smokers: a systematic review*. Tob Control, 2006. **15**(5): p. 352-8.

27. Woodfield, J.C., N.M. Beshay, R.A. Pettigrew, L.D. Plank, and A.M. van Rij, *American Society of Anesthesiologists classification of physical status as a predictor of wound infection*. ANZ J Surg, 2007. **77**(9): p. 738-41.
28. Koerner, P., A. Westerholt, W. Kessler, et al., [*Surgical trauma and postoperative immunosuppression*]. Chirurg, 2008. **79**(4): p. 290-4.
29. Greenfeld, K., R. Avraham, M. Benish, et al., *Immune suppression while awaiting surgery and following it: dissociations between plasma cytokine levels, their induced production, and NK cell cytotoxicity*. Brain Behav Immun, 2007. **21**(4): p. 503-13.
30. Bartal, I., R. Melamed, K. Greenfeld, et al., *Immune perturbations in patients along the perioperative period: alterations in cell surface markers and leukocyte subtypes before and after surgery*. Brain Behav Immun, 2010. **24**(3): p. 376-86.
31. Lukaszewicz, A.C., V. Faivre, and D. Payen, *Is monocyte HLA-DR-Expression monitoring a useful tool to predict the risk of secondary infection?* Minerva Anesthesiol, 2010. **76**(9): p. 737-43.
32. *Wikipedia*. June 13 2012]; Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/HLA-DR>.
33. Haupt, W., J. Riese, C. Mehler, et al., *Monocyte function before and after surgical trauma*. Dig Surg, 1998. **15**(2): p. 102-4.
34. Ayala, A., M.M. Perrin, and I.H. Chaudry, *Defective macrophage antigen presentation following haemorrhage is associated with the loss of MHC class II (Ia) antigens*. Immunology, 1990. **70**(1): p. 33-9.
35. Oczenski, W., H. Krenn, R. Jilch, et al., *HLA-DR as a marker for increased risk for systemic inflammation and septic complications after cardiac surgery*. Intensive Care Med, 2003. **29**(8): p. 1253-7.
36. Hiesmayr, M.J., A. Spittler, A. Lassnigg, et al., *Alterations in the number of circulating leucocytes, phenotype of monocyte and cytokine production in patients undergoing cardiothoracic surgery*. Clin Exp Immunol, 1999. **115**(2): p. 315-23.
37. Ploder, M., L. Pelinka, C. Schmuckenschlager, et al., *Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor alpha production and not monocyte human leukocyte antigen-DR expression is correlated with survival in septic trauma patients*. Shock, 2006. **25**(2): p. 129-34.
38. Giannoudis, P.V., R.M. Smith, A.C. Windsor, M.C. Bellamy, and P.J. Guillou, *Monocyte human leukocyte antigen-DR expression correlates with intrapulmonary shunting after major trauma*. Am J Surg, 1999. **177**(6): p. 454-9.
39. Sachse, C., M. Prigge, G. Cramer, N. Pallua, and E. Henkel, *Association between reduced human leukocyte antigen (HLA)-DR expression on blood monocytes and increased plasma level of interleukin-10 in patients with severe burns*. Clin Chem Lab Med, 1999. **37**(3): p. 193-8.

40. Tatsumi, H., H. Ura, S. Ikeda, et al., *Surgical influence on TH1/TH2 balance and monocyte surface antigen expression and its relation to infectious complications*. World J Surg, 2003. **27**(5): p. 522-8.
41. Kawasaki, T., M. Ogata, C. Kawasaki, et al., *Surgical stress induces endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR-Expression during surgery*. Anesth Analg, 2001. **92**(5): p. 1322-6.
42. Ono, S., H. Tsujimoto, S. Hiraki, et al., *Sex differences in cytokine production and surface antigen expression of peripheral blood mononuclear cells after surgery*. Am J Surg, 2005. **190**(3): p. 439-44.
43. Veenhof, A.A., C. Sietses, B.M. von Blomberg, et al., *The surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopic or conventional total mesorectal excision in rectal cancer: a randomized trial*. Int J Colorectal Dis, 2011. **26**(1): p. 53-9.
44. Mokart, D., J. Textoris, L. Chow-Chine, et al., *HLA-DR and B7-2 (CD86) monocyte expressions after major cancer surgery: profile in sepsis*. Minerva Anesthesiol, 2011. **77**(5): p. 522-7.
45. Perry, S.E., S.M. Mostafa, R. Wenstone, A. Shenkin, and P.J. McLaughlin, *Is low monocyte HLA-DR-Expression helpful to predict outcome in severe sepsis?* Intensive Care Med, 2003. **29**(8): p. 1245-52.
46. Lukaszewicz, A.C., M. Grienay, M. Resche-Rigon, et al., *Monocytic HLA-DR-Expression in intensive care patients: interest for prognosis and secondary infection prediction*. Crit Care Med, 2009. **37**(10): p. 2746-52.
47. Handy, J.M., A.J. Scott, A.M. Cross, et al., *HLA-DR-Expression and differential trafficking of monocyte subsets following low to intermediate risk surgery*. Anaesthesia, 2010. **65**(1): p. 27-35.
48. Cannon C, P.M., Tracy J, et al, *Male gender is associated with increased risk for postinjury pneumonia*. Shock, 2004. **21**: p. 410-4.
49. Hubacek, J.A., F. Stuber, D. Frohlich, et al., *Gene variants of the bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis*. Crit Care Med, 2001. **29**(3): p. 557-61.
50. Napolitano, L.M., M.E. Greco, A. Rodriguez, et al., *Gender differences in adverse outcomes after blunt trauma*. J Trauma, 2001. **50**(2): p. 274-80.
51. Robert-Koch-Institut, *Definitionen nosokomialer Infektionen (CDC-Definitionen)*, 2008. p. 8-18.
52. *Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia*. Am J Respir Crit Care Med, 2005. **171**(4): p. 388-416.

53. Levy, M.M., M.P. Fink, J.C. Marshall, et al., *2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference*. Intensive Care Med, 2003. **29**(4): p. 530-8.
54. Spies, C.D., V. von Dossow, V. Eggers, et al., *Altered cell-mediated immunity and increased postoperative infection rate in long-term alcoholic patients*. Anesthesiology, 2004. **100**(5): p. 1088-100.
55. *Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies*. The Lancet, 2004. **363**(9403): p. 157-163.
56. Rahmanian, P.B., D.H. Adams, J.G. Castillo, et al., *Impact of body mass index on early outcome and late survival in patients undergoing coronary artery bypass grafting or valve surgery or both*. Am J Cardiol, 2007. **100**(11): p. 1702-8.
57. House, M.G., Y. Fong, D.J. Arnaoutakis, et al., *Preoperative predictors for complications after pancreaticoduodenectomy: impact of BMI and body fat distribution*. J Gastrointest Surg, 2008. **12**(2): p. 270-8.
58. Asadullah, K., C. Woiciechowsky, W.D. Docke, et al., *Very low monocytic HLA-DR-Expression indicates high risk of infection--immunomonitoring for patients after neurosurgery and patients during high dose steroid therapy*. Eur J Emerg Med, 1995. **2**(4): p. 184-90.
59. Medina, M., M. Sillero, G. Martinez-Gallego, and M. Delgado-Rodriguez, *Risk factors of surgical wound infection in patients undergoing herniorrhaphy*. Eur J Surg, 1997. **163**(3): p. 191-8.
60. Livingston, D.H., S.H. Appel, S.R. Wellhausen, G. Sonnenfeld, and H.C. Polk, Jr., *Depressed interferon gamma production and monocyte HLA-DR-Expression after severe injury*. Arch Surg, 1988. **123**(11): p. 1309-12.
61. Hershman, M.J., W.G. Cheadle, S.R. Wellhausen, P.F. Davidson, and H.C. Polk, Jr., *Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient*. Br J Surg, 1990. **77**(2): p. 204-7.
62. Wu, J., Z. Liu, Y. Zhang, et al., *Age-dependent alterations of HLA-DR-Expression and effect of lipopolysaccharide on cytokine secretion of peripheral blood mononuclear cells in the elderly population*. Scand J Immunol, 2011. **74**(6): p. 603-8.
63. Floerkemeier, T., N. Tscheuschner, T. Calliess, et al., *Cementless short stem hip arthroplasty METHA((R)) as an encouraging option in adults with osteonecrosis of the femoral head*. Arch Orthop Trauma Surg, 2012.
64. Pomposelli, J.J., J.K. Baxter, 3rd, T.J. Babineau, et al., *Early postoperative glucose control predicts nosocomial infection rate in diabetic patients*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1998. **22**(2): p. 77-81.

65. Ahlers, O., I. Nachtigall, J. Lenze, et al., *Intraoperative thoracic epidural anaesthesia attenuates stress-induced immunosuppression in patients undergoing major abdominal surgery*. Br J Anaesth, 2008. **101**(6): p. 781-7.

## 9 Eidesstattliche Versicherung

Ich, Anja Philippeit, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss des Geschlechts auf die postoperative HLA-DR-Expression nach elektiver Pankreas- oder Ösophagusresektion“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

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

Datum

Unterschrift

### **Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen**

Anja Philippeit hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

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

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

Eingereicht im Januar 2013 beim „American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine“.

Weitere Publikationen sind nach Primärpublikation zu meinem Thema geplant.

Beitrag im Einzelnen (bitte kurz ausführen):

Mitarbeit bei der Datenerhebung und Erstellung der Datenbank, Auswertung der Daten in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Wernecke und Frau Prof. Spies.

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

## **10 Lebenslauf**

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

## 11 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. med. Claudia Spies, Direktorin der Kliniken für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum, für die Überlassung des Dissertationsthemas und die geduldige und engagierte Betreuung, sowie die finale Korrektur des Manuskripts.

Den Studienärzten Alexander Schiemann und Marco Paupers danke ich für die Organisation und Durchführung der ART-VI-Studie.

Für eine sehr gute und nette Zusammenarbeit danke ich meinen Mitdoktoranden Gunnar Lachmann, Julia Schäfer und Dominik Stöber. Bei Carolyn Geipel, Fatima Yürek, Johannes Kurth und Kay Dittrich möchte ich mich für die Unterstützung bei der Einarbeitung in die ART-VI-Studie bedanken.

Herrn Professor Dr. rer. nat. habil. Klaus-Dieter Wernecke danke ich für die besonders geduldige, äußerst kompetente und nette Hilfestellung in der statistischen Planung und Auswertung.

Bei Herrn Dr. med. Christian Meisel aus dem Institut für medizinische Immunologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin möchte ich mich für die Hilfe bei der HLA-DR-Auswertung bedanken.

Für ihre freundliche und unerlässliche Hilfe bei der Dokumentation danke ich Kathrin Scholtz.

Auch möchte ich mich bei allen Ärzten, Schwestern und Pflegern der Normalstationen, der Intensivstationen und der OP-Bereiche der Klinik der Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum bedanken.

Allen Studienteilnehmern danke ich für ihre Teilnahmebereitschaft und Geduld – durch sie wurde die Ausarbeitung dieses Themas erst möglich.

Ein Dankeschön von ganzem Herzen geht an meine Freunde, die mir über die Jahre zur Seite standen und mich mit ihren aufbauenden und konstruktiven Gesprächen unterstützten.

Udenkbar wäre die Dissertation ohne die unermüdliche Unterstützung meiner Familie gewesen. Sie haben mich mit viel Liebe durch das Studium begleitet. Ich bin ihnen in tiefster Dankbarkeit verbunden.