

Aus der
Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik
Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie
an der Universität Tübingen

**Alkoholkonsum und postoperative Komplikationen:
Zytokinbasierte Risikostratifizierung in der Unfallchirurgie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Anuk, Yeldâ
2025**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Nüssler
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. D. Steiner

Tag der Disputation: 08.12.2025

Widmung

In ewiger Dankbarkeit meiner Eltern.

Inhaltsverzeichnis	
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	9
Abkürzungsverzeichnis	10
Gender-Disclaimer	11
1 Einleitung	12
1.1 Die Auswirkungen des Alkoholkonsums auf die Gesundheit und Gesellschaft	12
1.2 Zytokine und deren Rolle bei der Wundheilung	14
1.3 Einfluss von Alkohol auf die Wundheilung	16
1.4 Weitere Risikofaktoren für eine Wundheilungsstörung und mögliche Komplikationen	16
1.4.1 BMI	16
1.4.2 Hohes Alter	17
1.4.3 Raucher	17
1.4.4 Stress	18
1.4.5 Medikamentöse Einflussfaktoren	18
1.5 Der AUDIT-C als Screening – Instrument zur Erfassung riskanten Alkoholkonsums	19
1.6 Ziele und Fragestellung der Studie	20
1.7 Eingliederung der Studie in das KIKS Projekt/AIQNET	21
2 Material und Methoden	22
2.1 Material	22
2.1.1 Kits zur Durchführung von Zytokinarrays	22
2.1.2 ELISA- Kits	22
2.1.3 Chemikalien	23
2.1.4 Geräte	27
2.1.5 Softwares	28
2.2 Methoden	28
2.2.1 Forschungsplan	28
2.2.2 Gutachten der Ethikkommission	29

2.2.3	Aufnahme der Patienten in die Studie	30
2.2.4	Einschlusskriterien	31
2.2.5	Ausschlusskriterien	31
2.2.6	Follow-up Befragungen	31
2.2.7	Probengewinnung und Verarbeitung	31
2.2.8	Studienpopulation	32
2.2.9	Komplikationseinteilung	32
2.2.10	Matching	36
2.2.11	Methode der Microarrays	37
2.2.12	Auswertung der Microarrays	40
2.2.13	Analyse der Microarrays	41
2.2.14	Bestimmung der Zytokinkonzentrationen durch ELISA	45
2.2.15	ELISA Datenauswertung	48
2.2.16	Erweiterte Analyse zur Bewertung geschlechtsübergreifender Aussagekraft potenzieller Biomarker	48
2.2.17	Statistische Auswertung	49
3	Ergebnisse	50
3.1	Patientenkollektiv	50
3.1.1	Geschlechterspezifische Unterschiede: Datenanalyse basierend auf dem standardisierten Fragenkatalog	52
3.2	Ergebnisse der ELISA	56
3.2.1	B7-1 bei Männern mit AUDIT-C ≥ 5	60
3.2.2	IL-13 bei Frauen mit AUDIT-C < 3	61
3.2.3	IL-13 bei Männern mit AUDIT-C = 4	63
3.2.4	Geschlechterspezifische Analyse basierend auf Fragenkatalog und angepasster AUDIT-C-Klassifikation	65
3.3	ELISA-Ergebnisse bei Männern und Frauen: Zusammengefasste Darstellung	68
3.4	IL-13 und B7-1 bei Männern und Frauen	72
3.5	Erweiterte ELISA-Auswertung zur Risikoabschätzung präoperativ	75
4	Diskussion	77
4.1	Charakteristika der Patientengruppe	78

4.2	Einfluss der Traumaschwere und chirurgischer Eingriffe auf das Immunsystem _____	78
4.3	Geschlechtsspezifische Risikofaktoren und ihre klinische Relevanz im Kontext postoperativer Komplikationen _____	79
4.3.1	Pack Years, Alter, BMI, FINDRISK _____	79
4.3.2	IL-13 als potenzieller Risikomarker für Komplikationen bei Frauen und Männern _____	80
4.3.3	B7 -1 als potenzieller Risikomarker für Komplikationen bei Männern _____	81
4.4	Geschlechtsspezifische Risikofaktoren und ihre klinische Relevanz im Kontext postoperativer Komplikationen bei negativem und positivem Alkoholkonsum _____	82
4.4.1	Pack Years, Alter, BMI, FINDRISK _____	82
4.5	ELISA - Ergebnisse geschlechtsunabhängige Differenzierung ____	83
4.5.1	B7-1 und IL -13 als potenzielle Risikomarker bei Komplikationen? _____	83
4.5.2	Präoperatives Trauma: CD28 und TIMP -1 als prädiktive Marker? _____	84
5	Limitationen _____	85
6	Klinischer Ausblick _____	86
7	Zusammenfassung _____	87
8	Anhang _____	90
8.1	Belegungspläne der Zytokin Arrays _____	90
9	Antrag auf Nutzung externer Abbildungen _____	91
10	Literaturverzeichnis _____	92
11	Erklärung zum Eigenanteil _____	100
12	Veröffentlichungen _____	102
13	Danksagung _____	103

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schema zum Ablauf der Studie	29
Abbildung 2: Ablauf der Microarrays nach dem RayBio® Protokoll Überarbeitet mit BioRender®	40
Abbildung 3: Visualisierung der relativen Zytokinkonzentrationen im Serum mittels Heat Maps.....	44
Abbildung 4: Ablauf der ELISA am Beispiel von (R&D Systems®).....	48
Abbildung 5: Einteilung der Abteilungen der BGU in Tübingen	51
Abbildung 6: Clusterdiagramm zur Übersicht und Einteilung des Patientenkollektivs.....	52
Abbildung 7: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Pack Years	53
Abbildung 8: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Alter	54
Abbildung 9: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - BMI	55
Abbildung 10: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - FINDRISK	56
Abbildung 11: Boxplots zur Darstellung Eotaxin-3 Konzentrationen.....	57
Abbildung 12: Boxplots zur Darstellung TIMP-1 Konzentrationen	57
Abbildung 13: Boxplots zur Darstellung der CD-28 Konzentrationen	58
Abbildung 14: Boxplots zur Darstellung der B7-1 Konzentrationen	58
Abbildung 15: Boxplots zur Darstellung der IL-13 Konzentrationen	59
Abbildung 16: Roc Kurve: Zytokin B7-1 bei Männern.....	61
Abbildung 17: Roc Kurve: Zytokin IL-13 bei Frauen	63
Abbildung 18: Roc Kurve: Zytokin IL-13 bei Männern	64
Abbildung 19: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Pack Years ..	65
Abbildung 20: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Alter	66
Abbildung 21: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - BMI	67
Abbildung 22: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - FINDRISK	68
Abbildung 23: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für Eotaxin-3.	69
Abbildung 24: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für TIMP - 1.	69
Abbildung 25: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für CD-28.	70

Abbildung 26: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für B7-1	71
Abbildung 27: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für IL-13	72
Abbildung 28: Roc Kurve: Zytokine A) B7-1 und B) IL-13 bei Männern und Frauen.....	74
Abbildung 29: Boxplots der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen.	77

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Kits zur Analyse von Zytokinarrays.....	22
Tabelle 2: Verwendete Kits zur Durchführung von ELISA-Analysen	22
Tabelle 3: Materialien und Reagenzien des Zytokin-Array-Kits von RayBiotech®	23
Tabelle 4: Für den ELISA (B7-1/CD80 und CD28) verwendete Reagenzien der Firma R&D Systems®	23
Tabelle 5: Für die ELISA Eotaxin-3/ TIMP-1/ IL-13 verwendete Reagenzien der Firma PeproTech®	24
Tabelle 6: Übersicht: ELISA und Verdünnungsfaktoren	25
Tabelle 7: Verwendete Laborchemikalien und selbst hergestellte Lösungen ...	26
Tabelle 8: Übersicht der verwendeten Geräte	27
Tabelle 9: Verwendete Softwareprogramme	28
Tabelle 10: Einteilung und Klassifikation der Komplikationen (Klassifizierungssystem durch das KIKS/AIQNET Projektteam des SWI).	35
Tabelle 11: Einteilung der Gruppen nach Geschlecht und AUDIT-C.....	37
Tabelle 12: Übersicht der eingesetzten Microarrays einschließlich der Anzahl der pro Membran detektierbaren Zytokine.....	38
Tabelle 13: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten für Männer B7 -1.....	61
Tabelle 14: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten bei Frauen IL -13	63
Tabelle 15: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten bei Männern IL -13	65
Tabelle 16: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten bei A) B7-1 und B) IL-13.....	75

Abkürzungsverzeichnis

AIQNET	Artificial Intelligence for clinical trials
APC	Antigenpräsentierende Zellen
AUDIT-C	Alcohol Use Disorders Identification Test
BGU	Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik
BMI	Body-Mass-Index
CD	Cluster of differentiation
ECL	Enhanced Chemiluminescence
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FINDRISK	Finnish Diabetes Risk Score
ID	Identifikationsnummer
IL	Interleukin
KIKS	Künstliche Intelligenz für klinische Studien
NK	Natürliche Killerzellen
ns	nicht signifikant
PY	Pack year
RA	Rheumatoide Arthritis
RT	Raumtemperatur
SWI	Siegfried-Weller-Institut
TGF- β	Transforming Growth Factor-beta
TNF- α	Tumornekrosefaktor- alpha
VEGF	Vascular endothelial growth factor

Gender-Disclaimer

Zur besseren Lesbarkeit wird in dieser Arbeit die grammatische Form des Maskulinums verwendet. Sie ist als generisches Maskulinum zu verstehen und schließt ausdrücklich alle Geschlechter und geschlechtlichen Identitäten ein. Die gewählte Form dient allein der sprachlichen Vereinfachung und impliziert keine Wertung oder Ausschließung.

1 Einleitung

1.1 Die Auswirkungen des Alkoholkonsums auf die Gesundheit und Gesellschaft

Weltweit konsumieren etwa 2,348 Milliarden Menschen, was 43 % der Bevölkerung ab 15 Jahren entspricht, regelmäßig Alkohol (1). Dabei zeigen sich deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede: Männer trinken etwa doppelt so häufig wie Frauen. Die Trinkerrate beträgt bei Männern 53,6 %, während sie bei Frauen lediglich 32,3 % erreicht. Diese Zahlen verdeutlichen nicht nur die globale Verbreitung des Alkoholkonsums, sondern auch die signifikanten Unterschiede im Trinkverhalten zwischen den Geschlechtern (1).

Alkoholkonsum hat tiefgreifende Auswirkungen auf den menschlichen Körper und beeinflusst insbesondere die Zytokinregulation in verschiedenen Geweben wie Lunge, Leber und Gehirn. Diese Störungen fördern entzündliche Prozesse, die die Heilung behindern und Krankheiten wie das Atemnotsyndrom, alkoholbedingte Lebererkrankungen sowie neurodegenerative Veränderungen verschärfen. Durch diese Mechanismen trägt Alkohol wesentlich zur Entstehung und Verschlimmerung entzündungsbedingte Pathologien bei (2). Starker Alkoholkonsum beeinträchtigt die Produktion von Blutzellen und verringert die Knochendichte, was das Risiko für Anämie und Knochenerkrankungen wie Osteoporose erhöht. Diese Effekte tragen wesentlich zu den gesundheitlichen Schäden durch Alkoholmissbrauch bei (3).

Insgesamt stellt Alkohol weltweit einen der bedeutendsten Risikofaktoren für vorzeitige Morbidität und Mortalität dar. Dies macht umfassende und langfristig angelegte Maßnahmen zur Reduktion des Konsums und zur Minderung der gesundheitlichen und gesellschaftlichen Folgen dringend erforderlich (4). In zahlreichen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und verschiedenen gesundheitlichen Beeinträchtigungen festgestellt, darunter insbesondere Herz-Kreislauf-Erkrankungen wie koronare Herzkrankheit (KHK), Schlaganfälle und Bluthochdruck (5). Darüber hinaus ist ein erhöhtes Risiko für osteoporotische Frakturen dokumentiert, was durch alkoholbedingte Veränderungen der Knochenmineraldichte verursacht wird (6).

Auch in Deutschland sind in den letzten Jahrzehnten deutliche Veränderungen im Trinkverhalten zu beobachten. Diese betreffen insbesondere die Präferenz für bestimmte alkoholische Getränke, die sich abhängig von Alter und Zeitverlauf unterschiedlich entwickeln (7). Nach Angaben des Robert Koch-Instituts konsumieren 13,1 % der Frauen und 18,5 % der Männer in Deutschland regelmäßig Alkoholmengen, die als gesundheitlich riskant einzustufen sind. Dabei steigt der Alkoholkonsum bei Männern tendenziell mit dem Alter, während bei Frauen vor allem der sozioökonomische Status eine zentrale Rolle spielt (8).

Laut dem Global Alcohol and Health Report der Weltgesundheitsorganisation (2018) ist der weltweite durchschnittliche Alkoholkonsum pro Person im Alter von 15 Jahren und älter zwischen den Jahren 2000 und 2016 von 5,7 auf 6,4 Liter reinen Alkohols pro Jahr angestiegen (1). Neben seiner Rolle bei der Entwicklung chronischer Erkrankungen trägt Alkohol auch erheblich zur Entstehung von Unfällen und Verletzungen bei (9). In der traumabezogenen Forschung wurde wiederholt gezeigt, dass akute Alkoholintoxikationen das Risiko für Verletzungen deutlich erhöhen. Zurückzuführen ist dies vor allem auf eine eingeschränkte kognitive Leistungsfähigkeit und eine verminderte motorische Koordination, die zu riskantem Verhalten und erhöhter Unfallgefahr führen. Darüber hinaus ist der akute Alkoholkonsum mit ungünstigeren klinischen Verläufen assoziiert, darunter eine verzögerte Wundheilung, eine verlängerte Hospitalisierungsdauer sowie eine erhöhte Rate posttraumatischer Komplikationen (9).

Während die akute Alkoholvergiftung zweifelsohne klinisch relevant ist, entfaltet der chronische Alkoholmissbrauch weitaus tiefgreifendere systemische Effekte. Insbesondere kommt es zu einer anhaltenden Beeinträchtigung der Immunfunktion, die sich in einer gestörten Zytokinproduktion, der eingeschränkten Funktion antigenpräsentierender Zellen sowie einer verminderten Entzündungsreaktion äußert. Dies führt zu einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber bakteriellen und viralen Infektionen (10). Darüber hinaus beeinflusst chronischer Alkoholkonsum die physiologischen Heilungsprozesse negativ, was sich in einer erhöhten Rate an Wundheilungsstörungen äußert. Diese Effekte sind nicht nur auf die immunologische Schwächung

zurückzuführen, sondern werden auch durch alkoholbedingte Leberfunktionsstörungen, hormonelle Dysbalancen sowie Gerinnungsstörungen verstärkt (10-12).

Trotz der belegten Verbindung zwischen Alkoholkonsum und bestimmten Verletzungsmechanismen lässt sich aus der Höhe des akuten Alkoholkonsums allein keine verlässliche Vorhersage über das Risiko posttraumatischer Komplikationen ableiten. Studien zeigen, dass die Blutalkoholkonzentration (BAL) keine konsistente Korrelation mit dem Schweregrad der Verletzungen oder der Mortalität aufweist und daher als prognostischer Marker im Kontext traumabedingter Verletzungen nur eingeschränkt geeignet ist (13).

Daraus ergibt sich ein klarer Bedarf an zuverlässigen Biomarkern, die sowohl die kumulativen Effekte eines langfristigen Alkoholkonsums abbilden als auch eine differenzierte Risikoeinschätzung hinsichtlich möglicher Komplikationen erlauben. Die Identifikation solcher Marker könnte es ermöglichen, gefährdete Patientengruppen frühzeitig zu erkennen, gezieltere therapeutische Maßnahmen einzuleiten und dadurch die individuelle Prognose nachhaltig zu verbessern.

1.2 Zytokine und deren Rolle bei der Wundheilung

Eine Wunde stellt eine Verletzung dar, bei der die physiologische Struktur und Funktion des Gewebes beeinträchtigt oder unterbrochen wird. Solche Verletzungen können von oberflächlichen Hautrissen bis hin zu tiefergehenden Gewebeschäden reichen, die auch Muskeln, Sehnen, Blutgefäße, Nerven, innere Organe oder sogar Knochen betreffen können (14).

Der darauffolgende Heilungsprozess ist ein komplexer, mehrstufiger Prozess, der in vier Phasen unterteilt ist: Hämostase, Entzündung, Proliferation und Remodellierung. Unmittelbar nach der Verletzung setzt die Blutgerinnung ein, um den Blutverlust zu stoppen. In der anschließenden Entzündungsphase werden Zelltrümmer entfernt und die Immunantwort aktiviert, um potenzielle Infektionen zu bekämpfen. Darauf folgt die Proliferationsphase, in der Fibroblasten neues Gewebe bilden und die Angiogenese die notwendige Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff sicherstellt. In der letzten Phase, der Remodellierung, wird das

Gewebe umstrukturiert, um die ursprüngliche Form und Funktion wiederherzustellen. Störungen in diesen Phasen können die Entstehung von Narbengewebe oder chronischen Wunden begünstigen (15). Dieser komplexe Prozess kann zusätzlich durch bestimmte Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus oder periphere Gefäßerkrankungen beeinträchtigt werden, da sie den Heilungsverlauf negativ beeinflussen und das Risiko für Komplikationen erhöhen (16).

Ein zentraler Faktor, der die verschiedenen Phasen der Wundheilung reguliert, sind Zytokine. Diese kleinen Proteine fungieren als Botenstoffe des Immunsystems und steuern die Kommunikation zwischen den Zellen. Sie regulieren wichtige Prozesse wie Entzündungsreaktionen, Immunantworten und Zellmigration. Zu den Hauptgruppen gehören Interleukine, Interferone, Tumornekrosefaktoren und Chemokine, die jeweils spezifische Funktionen übernehmen. Ihre Konzentrationen liefern wertvolle Hinweise auf physiologische sowie pathologische Abläufe, was sie zu bedeutenden Biomarkern für zahlreiche Erkrankungen macht. Daher ist die Messung von Zytokinen sowohl in der klinischen Medizin als auch in der biologischen Forschung von großer Bedeutung (17).

Zytokine spielen eine entscheidende Rolle in allen Phasen der Wundheilung. Proinflammatorische Zytokine wie Tumornekrosefaktor-alpha ($\text{TNF-}\alpha$) und Interleukin-6 (IL-6) fördern in der Entzündungsphase die Rekrutierung von Immunzellen an die Wundstelle, um die Abwehrreaktion zu aktivieren. Gleichzeitig sorgen entzündungshemmende Zytokine wie Interleukin-10 (IL-10) dafür, dass diese Reaktionen nicht übermäßig ausfallen und die Heilung nicht behindern. In der Proliferationsphase unterstützen Wachstumsfaktoren wie Transforming Growth Factor-beta ($\text{TGF-}\beta$) und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) die Bildung von Kollagen und die Angiogenese, die für die Versorgung des neu gebildeten Gewebes unerlässlich sind. Während der Remodellierungsphase regulieren Zytokine den Umbau der extrazellulären Matrix, was entscheidend für die Wiederherstellung der Gewebefunktion ist (18).

Besonders hervorzuheben sind Cluster of Differentiation 4⁺ (CD4⁺) T-Lymphozyten, die eine Schlüsselrolle bei der Wundheilung einnehmen. Sie steuern die Freisetzung von Zytokinen, regulieren die Entzündungsprozesse und tragen zur Reduktion von Narbenbildung bei, indem sie das Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Signalen aufrechterhalten (18).

1.3 Einfluss von Alkohol auf die Wundheilung

Alkoholkonsum wirkt sich nachweislich negativ auf die Wundheilung aus. Bereits eine einmalige Alkoholexposition kann die Kollagensynthese um bis zu 50 % reduzieren, was die Heilung verzögert, da Kollagen essenziell für den Wiederaufbau von Gewebe ist. Zusätzlich wird die Aktivität von Wachstumsfaktoren und die Zellproliferation gehemmt, wodurch der Heilungsprozess weiter verlangsamt wird. Besonders bei Traumapatienten, deren Genesung ohnehin komplex ist, erhöht Alkoholkonsum das Risiko für Infektionen und verlängert die Heilungszeit signifikant (19). Chronischer Alkoholkonsum schwächt das adaptive Immunsystem, indem er die Funktion von T- und B-Zellen beeinträchtigt, das Infektionsrisiko erhöht und Leberschäden fördert. Die genauen molekularen Mechanismen sind derzeit noch unzureichend erforscht (20). Aus der Schweizer Zeitschrift für Ernährungsmedizin von Alexandr Parlesak geht hervor, dass chronischer Alkoholmissbrauch die Produktion entzündungsfördernder Zytokine wie TNF- α , Interleukin-1 beta (IL-1 β), IL-6 und Interleukin-8 (IL-8) sowie die Expression kostimulatorischer Moleküle wie CD80/CD86 durch immunkompetente Zellen fördert, was eine Überstimulation des Immunsystems zur Folge hat. Diese Dysregulation trägt jedoch nicht zu einer effektiven Immunabwehr bei, sondern begünstigt systemische Entzündungsreaktionen und entzündungsbedingte Erkrankungen wie alkoholbedingte Lebererkrankungen (21).

1.4 Weitere Risikofaktoren für eine Wundheilungsstörung und mögliche Komplikationen

1.4.1 BMI

Der Body-Mass-Index (BMI), basierend auf Größe und Gewicht, dient der Einordnung in Kategorien wie Übergewicht und Fettleibigkeit. Er ermöglicht

zudem die Einschätzung von Risiken für chronische Krankheiten wie Diabetes und Bluthochdruck. Zur Verbesserung der Risikoprädiktion werden ergänzend Parameter wie Taillenumfang und das Taille-Hüft-Verhältnis herangezogen (20, 22).

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{\text{Körpergröße (m}^2\text{)}}$$

Sowohl Untergewicht (BMI < 18,5) als auch deutliches Übergewicht (BMI > 40) sind mit einem signifikant erhöhten Risiko für perioperative Komplikationen einschließlich Wunddehiszenz, Infektionen und schwerwiegenden chirurgischen Problemen assoziiert (23).

1.4.2 Hohes Alter

Bei älteren Menschen führen altersbedingte Veränderungen der Haut und des Immunsystems zu einer verzögerten Wundheilung, was die Entwicklung chronischer Wunden begünstigt. Dazu zählen unter anderem eine verminderte Proliferations- und Migrationsfähigkeit von Fibroblasten und Keratinozyten, eine gestörte Reepithelialisierung sowie eine Dysregulation entzündungsrelevanter Zytokine. Auch Durchblutungsstörungen und eine reduzierte Kollagenproduktion sind häufige Faktoren, die den Heilungsprozess weiter erschweren und gezielte Behandlungsstrategien erforderlich machen (24).

Wie Dissemond in der *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie* beschreibt, steigt mit zunehmendem Alter auch das Risiko für chronische Wundheilungsstörungen erheblich, da altersbedingte Veränderungen die Heilungsprozesse verlangsamen und Infektionen begünstigen können. Eine frühzeitige Diagnostik und gezielte Therapie sind daher essenziell, um schwere Komplikationen wie systemische Infektionen oder Sepsis zu verhindern (25).

1.4.3 Raucher

Rauchen hat nachweislich erhebliche negative Auswirkungen auf die Wundheilung und erhöht insbesondere das Risiko für Komplikationen nach chirurgischen Eingriffen. Studien zeigen, dass aktive Raucher ein um 59 % höheres Risiko für eine Wundheilungsstörung im Vergleich zu Nichtrauchern haben. Auch ehemalige Raucher tragen ein erhöhtes Risiko auch wenn dies im

Vergleich zu Rauchern um ein Vielfaches geringer ist. Bereits eine Nikotinkarenz von mindestens 30 Tagen vor einer geplanten Operation reduziert das Risiko für eine Wundheilungsstörung oder andere Komplikationen deutlich. Die Bedeutung des Rauchverzichts vor medizinischen Eingriffen wird daher in der wissenschaftlichen Literatur klar unterstrichen (26, 27). Die negativen Effekte des Rauchens sind auf die schädlichen Inhaltsstoffe des Zigarettenrauchs wie Nikotin, Kohlenmonoxid und Blausäure zurückzuführen. Nikotin verengt die Blutgefäße, reduziert dadurch die Durchblutung der Haut und beeinträchtigt die Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen. Dies erhöht das Risiko für mikrovaskuläre Verschlüsse und Gewebeischämie, während Kohlenmonoxid und Blausäure den Zellstoffwechsel zusätzlich stören (28).

1.4.4 Stress

Psychischer Stress hat einen erheblichen Einfluss auf das Immunsystem und spielt eine zentrale Rolle bei der Entstehung von gesundheitlichen Störungen. Akuter Stress kann kurzfristig eine aktivierende Wirkung auf das Immunsystem ausüben, indem er die Mobilisierung von Immunzellen wie T-Zellen und natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) fördert und deren Migration zu Entzündungs- oder Infektionsherden unterstützt. Dieser Effekt wird vor allem durch sympathoadrenerge Mechanismen vermittelt (29, 30).

Im Gegensatz dazu führt chronischer Stress zu einer nachhaltigen Schwächung der Immunabwehr. Er beeinträchtigt die zytotoxische Aktivität von NK-Zellen, hemmt die Antikörperproduktion und stört die T-Zell-Antwort, was zu einer erhöhten Infektanfälligkeit und einer verzögerten Wundheilung führt (30). Diese negativen Auswirkungen sind auf eine dauerhafte Aktivierung des neuroendokrinen Systems zurückzuführen, was als allostatistische Last bezeichnet wird. Diese beschreibt die gesundheitlichen Folgen der andauernden körperlichen Anstrengung zur Stressbewältigung, die langfristig das Risiko für entzündliche und stressbedingte Erkrankungen erhöht (31).

1.4.5 Medikamentöse Einflussfaktoren

Postoperative Infektionen und Wundheilungsstörungen stellen insbesondere bei Patienten unter immunsuppressiver Therapie ein relevantes Risiko dar. Diese

Medikamente erhöhen die Anfälligkeit für Infektionen und können den Heilungsprozess nach chirurgischen Eingriffen erheblich beeinträchtigen. Das perioperative Management gestaltet sich dabei oft komplex, da sowohl die Art der immunsuppressiven Wirkstoffe als auch die chirurgischen Verfahren je nach Fachgebiet variieren. Studien belegen, dass immunsuppressive Behandlungen sowohl die Infektionsrate als auch den Heilungsverlauf negativ beeinflussen können (32). Immunsuppressiva wie Glukokortikoide und Biologika wirken dabei hemmend auf entzündungsregulierende Prozesse, die für den Beginn und die Aufrechterhaltung der Geweberegeneration entscheidend sind, und können so die Wundheilung verzögern oder stören (33). Die Studie von Obeid et al. weist darauf hin, dass nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) wie Ibuprofen die Heilung von Knochen- und Knorpelgewebe im Kiefergelenk negativ beeinflussen können (34).

1.5 Der AUDIT-C als Screening – Instrument zur Erfassung riskanten Alkoholkonsums

Der AUDIT-C (Alcohol Use Disorders Identification Test – Consumption) ist eine verkürzte Version des AUDIT-Fragebogens, die speziell entwickelt wurde, um starkes Trinken sowie aktiven Alkoholmissbrauch oder -abhängigkeit effizient zu erkennen (35). Der Test umfasst drei einfache Fragen, die sich auf die Häufigkeit des Trinkens, die durchschnittliche Menge an einem typischen Trinktag sowie die Häufigkeit von Episoden mit sechs oder mehr alkoholischen Getränken beziehen. Jede Antwort wird mit Punkten zwischen 0 und 4 bewertet, woraus sich eine Gesamtsumme von 0 bis 12 Punkten ergibt. Höhere Punktzahlen weisen auf ein erhöhtes Risiko für problematischen Alkoholkonsum hin (36, 37).

Mit einem Schwellenwert von drei Punkten bietet der AUDIT-C eine hohe Sensitivität und identifiziert 90 % der Patienten mit aktivem Alkoholmissbrauch oder -abhängigkeit und 98 % der starken Trinker. Bei einem Schwellenwert von vier Punkten wird die Spezifität erhöht, was die Wahrscheinlichkeit falsch-positiver Ergebnisse reduziert, ohne die Sensitivität stark zu beeinträchtigen. Diese Schwellenwerte machen den AUDIT-C zu einem effektiven Instrument, um

gefährdete Patienten in der Primärversorgung frühzeitig zu erkennen und gezielte Interventionen einzuleiten (36).

Im Vergleich zum vollständigen AUDIT, der aus zehn Fragen besteht, zeigt der AUDIT-C nahezu gleichwertige Ergebnisse bei der Erkennung von starkem Alkoholkonsum oder Alkoholmissbrauch. Während der vollständige AUDIT minimal besser darin ist, aktive Alkoholabhängigkeit zu identifizieren, bietet der AUDIT-C durch seine Kürze und Einfachheit einen entscheidenden Vorteil für die praktische Anwendung in der Routineversorgung. Zudem ist der AUDIT-C leicht in allgemeine Gesundheitsfragebögen oder elektronische Patientenakten zu integrieren und kann somit effektiv in breit angelegte Screening-Programme eingebunden werden (36, 38).

Der AUDIT-C ist nicht nur zeitsparend und praktikabel, sondern auch ein leistungsstarkes Werkzeug, um problematisches Trinkverhalten frühzeitig zu erkennen, bevor schwerwiegende gesundheitliche, soziale oder psychologische Folgen auftreten. Seine einfache Struktur und die hohe diagnostische Genauigkeit machen ihn zu einem wertvollen Instrument für die Prävention und Behandlung alkoholbedingter Probleme, insbesondere in der Primärversorgung (36, 39).

1.6 Ziele und Fragestellung der Studie

Das übergeordnete Ziel dieser Studie ist die frühzeitige Identifikation von Patienten, die infolge ihres Alkoholkonsums ein erhöhtes Risiko für postoperative Komplikationen oder atypische Heilungsverläufe nach einem Trauma aufweisen. Im Fokus steht die Untersuchung, ob bestimmte Zytokine, gemessen mithilfe von Microarrays und ELISA, einen prädiktiven Wert für die postoperative Entwicklung von Komplikationen haben.

Eine zentrale Fragestellung lautet: Können bereits durch eine gezielte Blutuntersuchung und die Analyse eines optimierten Anamnesebogens Patienten identifiziert werden, die ein potenziell erhöhtes Risiko für atypische Heilungsverläufe oder Komplikationen aufweisen? Dabei wird geprüft, ob eine Zytokin-Bestimmung im Blut sowie standardisierte Informationen aus

Anamnesebögen, wie FINDRISK, BMI, AUDIT-C und Clavien-Dindo-Klassifikation, als prädiktive Marker dienen können.

Langfristig strebt die Studie an, prädiktive Ansätze zu entwickeln, die es ermöglichen, Risikopatienten präoperativ zu identifizieren. Dies soll sowohl zur frühzeitigen Erkennung beitragen als auch die präventive Planung und gezielte Interventionen zur Vermeidung von Komplikationen und zur Förderung eines optimalen Heilungsverlaufs ermöglichen.

1.7 Eingliederung der Studie in das KIKS Projekt/AIQNET

Im Rahmen des Digitalisierungsprojekts KIKS („Künstliche Intelligenz für klinische Studien“) wurden die Patienten der vorliegenden Studie in eine umfangreiche Datenbank aufgenommen. Ziel des KIKS-Projekts ist die sektorenübergreifende Erfassung und Digitalisierung von Patientendaten, um ein nachhaltiges und vernetztes System zu schaffen (40). KIKS ist Teil der bundesweiten Initiative AIQNET, die vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz gefördert wird. Ziel von AIQNET ist der Aufbau eines „Medical Data Ecosystems“, in dem medizinische Daten strukturiert, interoperabel und datenschutzkonform genutzt werden können - unabhängig von Krankenhausinformationssystemen, Dateiformaten oder Technologien (40, 41). Das Projekt verfolgt somit das Ziel, den Austausch von Patientendaten unter strenger Berücksichtigung des Datenschutzes zu ermöglichen und gleichzeitig die Effizienz sowie die Qualitätssicherung in der Medizintechnik und klinischen Forschung zu fördern (42).

Die Datenbank wurde durch die aktive Mitarbeit von Doktoranden und Mitarbeitern des klinischen Studienzentrums der BGU Tübingen aufgebaut. Dabei wurden stationäre Patienten aus unterschiedlichen Fachbereichen wie der Traumatologie, Endoprothetik, Alterstraumatologie (ATZ) und septischen Chirurgie erfasst. Ziel ist es, durch diesen „Patientenpool“ langfristig auch anderen Kliniken Zugriff auf anonymisierte Daten zu ermöglichen, um klinische Studien effizienter und zukunftsorientierter zu gestalten. Für die vorliegende

Arbeit wurden ausschließlich Daten von Patienten aus der KIKS-Dokumentation verwendet.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Kits zur Durchführung von Zytokinarrays

Tabelle 1: Verwendete Kits zur Analyse von Zytokinarrays

Zytokinarray	Hersteller	Anzahl der Zytokine (Targets)	Katalog Nr. / Lot Nr.
Human Immune Checkpoint Array C1 Biotinylierter Antikörpercocktail	Raybiotech®	23	AAH-ICM-1B, C0251420
Human Cytokine Array C5 Biotinylierter Antikörpercocktail	Raybiotech®	80	AAH-CYT-5B, C0152521

2.1.2 ELISA- Kits

Tabelle 2: Verwendete Kits zur Durchführung von ELISA-Analysen

ELISA	Hersteller	Katalog Nr. / Lot Nr.
Human B7-1/CD80	R&D Systems®	DY140, P300652
Human CD28	R&D Systems®	DY342-05, P376560
Human Eotaxin 3/ CCL26	PeptoTech®	900-K167/ 0615167
Human TIMP-1	PeptoTech®	900- K438/ 1010438
Human IL-13	PeptoTech®	900-K23/ 0817023

2.1.3 Chemikalien

Tabelle 3: Materialien und Reagenzien des Zytokin-Array-Kits von RayBiotech®

Raybiotech®
Blockpuffer
Waschpuffer 1
Waschpuffer 2
Biotinylierter Antikörpercocktail
Streptavidin-konjugiertes HRP
Detektionspuffer C
Detektionspuffer D
Lysepuffer
8-Well-Inkubationsplatte

Tabelle 4: Für den ELISA (B7-1/CD80 und CD28) verwendete Reagenzien der Firma R&D Systems®

R&D Systems®	Komponenten	Katalog Nr.
PBS	137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na ₂ HPO ₄ , 1.5 mM KH ₂ PO ₄ , pH 7.2-7.4, 0.2 µm gefiltert	DY006
Waschpuffer	0.05 % Tween® 20 in PBS, pH 7.2-7.4	WA126
Reagenzverdünnungsmittel	1 % BSA in PBS, pH 7.2-7.4, 0.2 µm gefiltert	DY995
Substratlösung	1:1 Mischung aus Farbreagenz A (H ₂ O ₂) und Farbreagenz B (Tetramethylbenzidin)	DY999
Stopp Lösung	2 N H ₂ SO ₄	DY994

Tabelle 5: Für die ELISA Eotaxin-3/ TIMP-1/ IL-13 verwendete Reagenzien der Firma PeproTech®

PeproTech®	Komponenten
PBS	10 x PBS auf 1xPBS, pH 7.20 in sterilem Wasser verdünnen
Waschpuffer	0.05 % Tween-20 in PBS
Blockpuffer	1 % BSA in PBS
Verdünnungsmittel	0.05 % Tween-20, 0.1% BSA in PBS
Fangantikörper	<ul style="list-style-type: none"> ➔ 100 µg Kaninchen-Anti-Human TIMP-1 + 2.5 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 100 µg/ml rekonstituieren ➔ 50 µg Ziegen-Anti-Human Eotaxin-3 (CCL26) + 2.5 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 0.50 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 100 µg/ml rekonstituieren ➔ 201 µg Kaninchen-Anti-Human IL-13 + 2.5 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1.005 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 200 µg/ml rekonstituieren
Detektionsantikörper	<ul style="list-style-type: none"> ➔ 50 µg biotinyliertes Kaninchen-Anti TIMP-1 + 2.5 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 100 µg/ml rekonstituieren ➔ 50 µg biotinyliertes Ziegen-Anti Eotaxin-3 (CCL26) + 2.5 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem zentrifugieren, in 0.50 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 100 µg/ml rekonstituieren ➔ 101 µg biotinyliertes Kaninchen-Anti IL-13 + 2.5 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1.01 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 100 µg/ml rekonstituieren
Standard	<ul style="list-style-type: none"> ➔ 1 µg rekombinantes humanes TIMP-1+ 2.2 mg BSA + 11.0 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 1 µg/ml rekonstituieren ➔ 1 µg rekombinantes humanes Eotaxin-3 (CCL26) + 2.2 mg BSA + 11.0 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 1 µg/ml rekonstituieren

	→ 1 µg rekombinantes humanes IL-13 + 2.2 mg BSA + 11.0 mg D-Mannitol, Fläschchen vor dem Öffnen zentrifugieren, in 1 ml sterilem Wasser zu einer Konzentration von 1 µg/ml rekonstituieren
Avidin-HRP-Konjugat	5.5 µl of Avidin-HRP Konjugat 1:2000 in Verdünnungsmittel (0.05% Tween-20 + 0.1 % BSA in PBS) für ein Gesamtvolumen von 11 ml
ABTS Reaktionspuffer	0.1 M Zitronensäurelösung (pH 4.4)
ABTS Stammlösung	15 mg ABTS in 1 ml ddH ₂ O (100 µl Aliquots)
ABTS Reaktionslösung	5 ml ABTS Reaktionspuffer, 100 µl ABTS-Stammlösung, 5 µl 30% H ₂ O ₂ Lösung

Tabelle 6: Übersicht: ELISA und Verdünnungsfaktoren

Zytokine	Funktion	Hersteller	Katalog Nr.	Verdünnungsfaktor
B7-1/ CD80	T-Zell Regulation	R&D Systems®	DY140	1.25
CD28	T-Zell Regulation	R&D Systems®	DY342-05	2.0
Eotaxin- 3/ CCL26	Beteiligung an Entzündungsprozessen	PeptoTech®	900-K167	1.5
TIMP-1	Wundheilung	PeptoTech®	900- K438	50
IL-13	Bildung und Differenzierung von B- Lymphozyten	PeptoTech®	900- K23	1.5

Tabelle 7: Verwendete Laborchemikalien und selbst hergestellte Lösungen

Chemikalien	Hersteller	Katalog Nr.
Tween®20 250 g Ph. Eur. Polyoxyethylen-20-sorbitanmonolaurat	Carl Roth®	9127.1
PBS Dulbecco´s Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (Pulver)	Sigma-Aldrich®	D5652-10L
Laborwasser (ddH₂O)	Carl Roth®	3175.1
BSA - Rinderserumalbumin (Albumin Fraktion V > 98%)	Applichem®	A1391
Zitronensäure-Monohydrat	Sigma Aldrich®	C1909-500G
30 % H₂O₂	Carl Roth®	CP26.5
ABTS 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäure)	Sigma®	A1888
10xPBS-Lösung	Dulbecco´s phosphatgepufferte Kochsalzlösung in 1000 ml ddH ₂ O	-
PBS	500 ml 10xPBS, 4500 ml ddH ₂ O (PBS-Kanister)	-
Waschpuffer	1000 ml PBS, 0.5 ml Tween-20 (Carl Roth®)	-
5 % BSA in PBS	50 ml PBS, 2.5 g BSA/Albumin	-
1 % BSA in PBS	40 ml PBS, 10 ml 5 % BSA in PBS- Lösung	-

2.1.4 Geräte

Tabelle 8: Übersicht der verwendeten Geräte

Geräte	Typ/Modell	Seriennummer	Hersteller
Kühlschrank	Power-Kühlung	3523-21 F	Liebherr®
Kühlschrank (-80°C)	905	827860-2521	Thermo Fisher Scientific®
Spektralphotometer, UV-/sichtbares Licht	Fluostar Omega	415-1264	BMG LABTECH GmbH®
Dosiergerät- Pipettiersteuerung	Rota-Filter 3000	-	Integra GmbH®
Dosiergerät- Pipettiersteuerung	Pipetboy acu	629619	Integra GmbH®
Schüttler, Labor	DRS 12	11 DE 090	LTF Labortechnik GmbH®
Mixer, klinisches Labor (Vortexer)	LSE Vortex Mixer	1101243	Corning Incorporated®
Zentrifuge	Heraeus Megafuge 40R	41307652	Thermo Fisher Scientific®
Kleine Zentrifuge (nicht temperiert)	Sprout	HSE53563	Biozym Scientific GmbH®
pH-meter	Five Easy FE20	1232315296	Mettler-Toledo GmbH®
Chemilumineszenz- Immunoassay- Analysegerät	Chemo Cam Imager	-	Intas Science Imaging Ins GmbH®
Präzisionswaage	ABJ 120-4 M	WB 1140084	Kern & Sohn GmbH®

2.1.5 Softwares

Tabelle 9: Verwendete Softwareprogramme

Programm	Hersteller	Version
ChemoStar Imager	Intas®	v.0.2.39 (Juni 2011)
Image J	Research Services Branch®	2.9.0 / 1.54f
Microsoft Excel	Microsoft Corporation®	16.78.3
Microsoft Word	Microsoft Corporation®	16.78.3
Omega Software	BMG Labtech®	5.70
JMP 16®	SAS Institute Inc. ®	16.2.0 (570548)
Graph Pad Prism	Graph Pad Software, Inc. ®	8.0.1.244
Endnote 21	Clarivate Analytics®	21.5

2.2 Methoden

2.2.1 Forschungsplan

Im Rahmen der klinisch-experimentellen Studie werden stationäre Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen, darunter Alterstraumatologie, septische Erkrankungen, orthopädische Eingriffe und traumatologische Verletzungen, eingeschlossen. Teilnahmeberechtigt sind volljährige und deutschsprachige Patienten, die geistig uneingeschränkt sind und die eine geplante Operation erhalten. Nach freiwilliger Einwilligung und unterzeichneter Datenschutzerklärung erfolgt zunächst eine detaillierte Datenerhebung anhand eines standardisierten Fragebogens, der über die speziell entwickelte App „Heartbeat“ auf einem iPad ausgefüllt wird. Dabei werden Vorerkrankungen (z. B. Diabetes), Ernährungsstatus, soziales Umfeld, Mobilität, Schmerzverläufe sowie der Konsum von Nikotin oder Alkohol erfasst.

Zusätzlich wird eine venöse Blutentnahme durchgeführt. Die Blutproben werden anschließend im Labor des Siegfried-Weller-Instituts weiterverarbeitet. Nach einer Zentrifugation (1000 x g, 10 Minuten, 4 °C) erfolgt die Trennung in EDTA-Plasma und Serum. Anschließend werden die Proben in sieben Eppendorf-Gefäße pipettiert und bei -80 °C eingefroren, um eine präzise spätere Analyse zu gewährleisten.

Die gewonnenen Blutproben werden anschließend mittels Microarrays analysiert, um die relative Expression verschiedener Zytokine zu bestimmen, die eine entscheidende Rolle im Immunsystem und in Entzündungsprozessen spielen. Zur gezielten Quantifizierung auffälliger Zytokine erfolgt zusätzlich eine Untersuchung mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). Diese Werte werden mit den klinischen Verlaufsdaten abgeglichen, um potenzielle Risikopatienten zu identifizieren, bei denen bestimmte Immunmarker mit einem erhöhten Komplikationsrisiko in Verbindung stehen könnten (Abbildung 1).

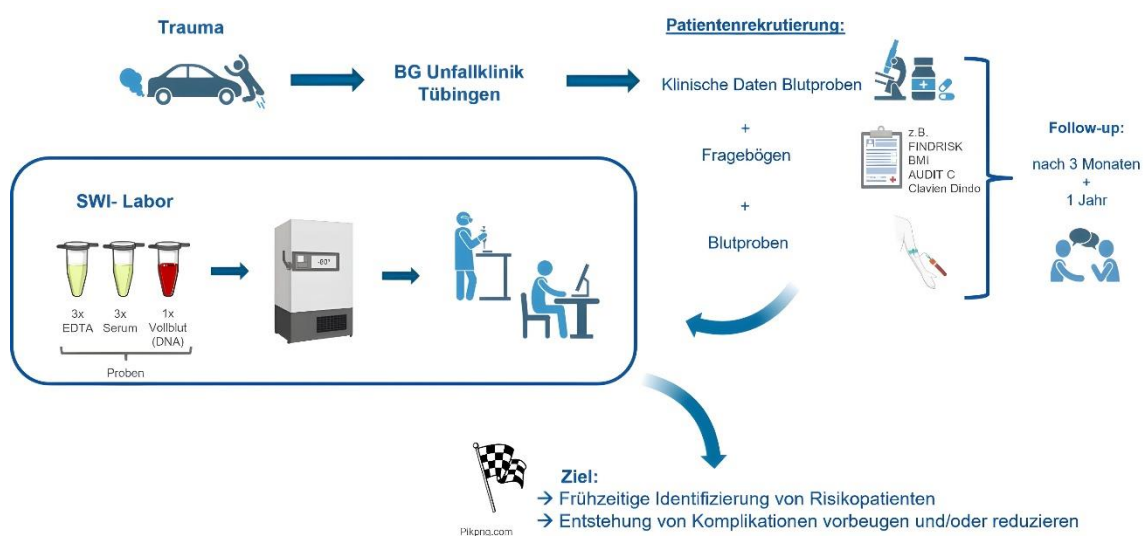


Abbildung 1: Schema zum Ablauf der Studie (erstellt mit BioRender.com und Windows-PowerPoint)

2.2.2 Gutachten der Ethikkommission

Das Projekt AIQNET/KIKS wurde mit Unterstützung des Bundesministeriums für Wirtschaft und Klimaschutz der Bundesrepublik Deutschland gefördert (Förderkennzeichen: FKZ 01MK20003G).

Die Durchführung der Studie erfolgte in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki (1964) und wurde am 08.07.2020 durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität Tübingen unter dem Ethikvotum 346/2015BO2 (Amendement) genehmigt. Sämtliche Studienteilnehmer erteilten vor Einschluss in die Studie ihre schriftliche Einwilligung.

2.2.3 Aufnahme der Patienten in die Studie

Die vorliegende Studie umfasst stationäre Patienten aus den Bereichen Endoprothetik, Traumatologie sowie Alterstraumatologie und Sepsis an der BGU Tübingen. Vor Studieneinschluss erfolgte eine detaillierte Aufklärung über den Datenschutz sowie den Zweck der Untersuchung. Alle Teilnehmer wurden über ihre Freiwilligkeit und die Möglichkeit eines jederzeitigen Studienaustritts ohne persönliche Konsequenzen informiert. Die Zustimmung zur Teilnahme wurde durch eine schriftliche Einwilligung im Rahmen eines Broad Consent dokumentiert, wobei die Patienten eine Kopie der unterzeichneten Datenschutzerklärung erhielten.

Zum Schutz der personenbezogenen Daten wurden sämtliche Informationen verschlüsselt und mit einer Studiennummer (ID) anonymisiert. Ein Zugriff auf die unverschlüsselten Daten war nur für befugte Mitglieder des Forschungsteams möglich.

Nach Einwilligung umfasste die Studienaufnahme mehrere Schritte:

- **Blutentnahme:** Zusätzlich zur routinemäßigen Blutabnahme wurden weitere Monovetten für die spätere Analyse entnommen.
- **Patientenbefragung:** Mithilfe eines strukturierten Fragebogens, der unter anderem Informationen zu Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme, Mobilität, Schmerzverlauf sowie Nikotin- und Alkoholkonsum erfasste.
- **Erhebung klinischer Daten:** Medizinische Informationen wie Nebenerkrankungen, Keimnachweise und Laborwerte wurden aus dem Krankenhausinformationssystem (CGM Medico KIS) extrahiert.

Sämtliche Patientendaten wurden zur weiteren Verwendung anonymisiert, sodass ein Rückschluss auf Einzelpersonen für unbefugte Dritte nicht möglich war. Der Zugriff auf unverschlüsselte Daten war ausschließlich dem autorisierten Forschungsteam vorbehalten.

2.2.4 Einschlusskriterien

Für die Teilnahme an der Studie waren folgende Voraussetzungen erforderlich: Mindestalter 18 Jahre, ein geplanter operativer Eingriff, uneingeschränkte kognitive Fähigkeiten und gute Deutschkenntnisse. Zudem war eine freiwillige Teilnahme mit unterschriebener Einverständniserklärung (Datenschutz, Blutproben) notwendig.

2.2.5 Ausschlusskriterien

Von der Studie ausgeschlossen wurden Patienten unter 18 Jahren sowie solche, die eine Teilnahme an der Befragung oder am Follow-up ablehnten. Ebenso führten eine konservative Therapie, fehlende Kommunikationsmöglichkeiten sowie kognitive Einschränkungen wie zum Beispiel Demenz zum Ausschluss.

2.2.6 Follow-up Befragungen

Für die Studie wurden die Teilnehmer nach drei und zwölf Monaten erneut befragt, entweder telefonisch oder per E-Mail durch Studierende oder Mitarbeitende der BGU Tübingen. Dabei wurden Daten zu Komplikationen, Veränderungen im Lebensstil, Heilungsverlauf und Gewichtsveränderungen erhoben. Zusätzlich wurden Informationen zu Mobilitätseinschränkungen, Alltagsbewältigung und weiteren Operationen nach der Entlassung erfasst.

Die Dokumentation der Follow-ups erfolgte zunächst im CGM Medico KIS-System und später in der Heartbeat Medical Software. Parallel wurden die Daten mit Komplikationseinteilungen in einer zentralen Datenbank hinterlegt. Während Patienten von Klido ausschließlich telefonisch befragt wurden, versandte Heartbeat Medical die Fragebögen automatisiert per E-Mail und ergänzte bei ausbleibenden Antworten telefonische Kontakte.

2.2.7 Probengewinnung und Verarbeitung

Im Rahmen routinemäßiger Blutabnahmen wurden jedem Patienten 7 ml venöses Blut entnommen, aufgeteilt in ein Serum-Röhrchen (4 ml) und ein EDTA-Röhrchen (2,7 ml). Es wurden sowohl präoperative als auch postoperative Proben berücksichtigt, da eine einheitliche präoperative Entnahme aus logistischen Gründen nicht immer möglich war. Die Blutentnahmen erfolgten

unter Beachtung hygienischer Standards, mit einer Stauungszeit von maximal 30 bis 60 Sekunden.

Nach der Entnahme wurden die Proben 30 bis 60 Minuten bei 4 °C zwischengelagert, um die Gerinnung zu gewährleisten, und anschließend im Labor verarbeitet. Hierbei wurden die Monovetten bei 1000 x g und 4 °C für 10 Minuten zentrifugiert. Danach wurden die Bestandteile des Blutes in Eppendorf-Gefäße überführt: 3 x 450 µl Serum, 3 x 450 µl EDTA-Plasma und 1 x 450 µl Vollblut. Das Vollblut wurde nach dem Abpipettieren des Plasmas noch einmal gemischt, bevor es für DNA-Analysen verwendet wurde. Alle Proben wurden mit Studien-ID, Datum, Kürzel des Mitarbeiters sowie einer Kennzeichnung für den Inhalt (Serum, EDTA-Plasma oder Vollblut) beschriftet.

Die fertigen Proben wurden anschließend in speziell vorgesehenen Boxen bei -80 °C gelagert, um eine langfristige Konservierung zu gewährleisten. Die gesamte Prozessierung, einschließlich Entnahme, Zentrifugation und Lagerung, wurde detailliert dokumentiert, sowohl handschriftlich im Laborbuch als auch digital in einer Excel-Tabelle.

Für die Analyse kamen unterschiedliche Probenbestandteile zum Einsatz: Das Serum wurde für Microarrays verwendet, während sowohl Serum als auch EDTA-Plasma für die Durchführung von ELISA-Analysen genutzt wurden. Die Lagerung und Verarbeitung erfolgten unter standardisierten Bedingungen, um die Qualität der Proben zu gewährleisten.

2.2.8 Studienpopulation

Die Rekrutierung der Patienten für die vorliegende Studie erfolgte über einen Zeitraum von etwas mehr als zwei Jahren, beginnend im Juli 2020 und abschließend im Dezember 2022.

2.2.9 Komplikationseinteilung

Anhand der Follow-ups sowie ergänzender ärztlicher Diagnosen aus den postoperativen Kontrolluntersuchungen wurde ermittelt, ob Patienten innerhalb der ersten drei Monate nach dem Eingriff eine Frühkomplikation entwickelten. Die

uneinheitliche Berichterstattung über negative Ergebnisse in der chirurgischen Fachliteratur erschwert dabei die Vergleichbarkeit und Interpretation von Studienergebnissen erheblich (43). Zur systematischen Einordnung der Komplikationen wurde daher die Clavien-Dindo-Klassifikation herangezogen, ein etabliertes Schema zur Bewertung postoperativer Komplikationen, das sich auf die zur Behandlung erforderlichen Maßnahmen konzentriert und nicht auf die Art der Komplikation selbst (44, 45). Die Einteilung erfolgt dabei anhand des Umfangs der therapeutischen Intervention – von einfachen medikamentösen Behandlungen über operative Eingriffe bis hin zur intensivmedizinischen Betreuung – und reicht bis zur schwerwiegendsten Komplikation, dem Tod des Patienten (45, 46). Um postoperative Komplikationen sowie unfallchirurgische Eingriffe im Rahmen dieser Studie präziser erfassen und bewerten zu können, wurde eine modifizierte Klassifikation entwickelt, die sich in ihrer Grundstruktur am etablierten Clavien-Dindo-System orientiert. Diese angepasste Klassifikation entstand in enger Zusammenarbeit mit dem SWI-KIKS/AIQNET-Team der BGU Tübingen und wurde gezielt auf die spezifischen Anforderungen des untersuchten Patientenkollektivs zugeschnitten. Ziel war es, eine differenziertere Einteilung der Komplikationen zu ermöglichen, um so eine präzisere Analyse und Bewertung zu gewährleisten. Hierbei kennzeichnet die Gruppe null Patienten mit „keinen Komplikationen“ was der Kontrollgruppe in unserer Studie entspricht. Klasse eins bis zehn entsprechen den Komplikationsgruppen.

Das modifizierte Klassifikationssystem unterscheidet insgesamt elf Gruppen. Gruppe 0 umfasst Patienten ohne dokumentierte Komplikationen und entspricht somit der Kontrollgruppe. Die Gruppen 1 bis 10 stellen verschiedene Formen postoperativer Komplikationen dar, wobei eine genauere Kategorisierung insbesondere infektiöse und internistische Verläufe berücksichtigt.

Klassen zwei bis vier beschreiben Infektionskomplikationen die unterteilt werden in Klasse zwei mit „Implantat- assoziierter Spätinfekt“, Klasse drei „Nicht - Implantat assoziierter Frühinfekt“ und Klasse vier die „Nicht - Implantat assoziierten Spätinfekte“.

Klasse fünf fasst die „Eingriff-assoziiert auftretende Komplikation“ und Klasse sechs die „Diagnose-assoziierte Komplikation“. Beide Einteilungsklassen werden in der Auswertung ausgeschlossen.

Klasse sieben und acht werden unter „andere Komplikationen“ zusammengefasst. Davon beschreibt Klasse sieben die „Internistischen Komplikationen“ und Klasse acht die „Postoperative - Komplikationen“.

Klasse neun beschreibt die „Vorbestehende Komplikation“ und Klasse zehn fällt unter „Anderer Ausschluss“, was alle anderen Gründe für einen Ausschluss beschreibt. Zusammen werden sie auch aus der Auswertung ausgeschlossen.

Die in Tabelle 10 rot hervorgehobenen Klassen fünf, sechs, neun und zehn wurden von der Analyse ausgeschlossen, da sie keine aussagekräftigen Rückschlüsse auf die Entstehung postoperativer Komplikationen im Zusammenhang mit regelmäßigem Alkoholkonsum zulassen.

Tabelle 10: Einteilung und Klassifikation der Komplikationen (Klassifizierungssystem durch das KIKS/AIQNET Projektteam des SWI). In Rot hervorgehobene Klassen wurden von der Analyse ausgeschlossen.

Klassifikation	Definition	übergeordnet	Übersetzung
0	keine Komplikation	Kontrolle	no complication
1	Implantat assoziierter Frühinfekt	Infektions Komplikation	implant-associated early infect
2	Implantat assoziierter Spätinfekt		implant-associated late infect
3	Nicht-Implantat-assoziierter Frühinfekt		not implant-associated early infect
4	Nicht-Implantat-assoziierter Spätinfekt		not implant-associated late infect
5	Eingriff-assozierte Komplikation	ausgeschlossen	process/surgery associated complication
6	Diagnose-assozierte Komplikation		severity of diagnosis associated complication
7	Internistische Komplikation	andere Komplikationen	internistic/internal complication
8	Postoperative Komplikation		post-operative complication
9	Vorbestehende Komplikation	ausgeschlossen	already existing complication
10	Anderer Ausschluss		other reasons for exclusions

2.2.10 Matching

Zur Sicherstellung einer methodisch belastbaren Vergleichbarkeit sowie zur Minimierung potenzieller Confounder erfolgte eine fallbasierte Zuordnung der Patienten der Komplikationsgruppe zu äquivalenten Kontrollfällen mittels Partitionierungsanalyse unter Anwendung der JMP-Software. Dabei wurde eine Mindestgruppengröße von $N = 10$ als statistisches Einschlusskriterium definiert. Im Rahmen der Matching-Strategie wurde auf eine möglichst hohe Übereinstimmung hinsichtlich der relevanten Patientenmerkmale – Geschlecht, Alter, Body-Mass-Index (BMI), Rauchstatus, Alkoholkonsum sowie FINDRISK-Score – geachtet. Ziel war die Generierung vergleichbarer Studienkohorten, um beobachtete Outcome-Differenzen mit größtmöglicher Validität dem untersuchten Einflussfaktor zuordnen zu können (47).

Dabei unterschieden sich die festgelegten Kriterien je nach Geschlecht (Tabelle 11)

- Für Frauen mit einem AUDIT-C-Score unter 3 Punkten wurden ein Alter von über 30 Jahren, ein $BMI \leq 35 \text{ kg/m}^2$ sowie ein FINDRISK-Score < 20 als Einschlusskriterien definiert (Gruppe 1: $N=27$).
- Frauen mit einem AUDIT-C-Score von 3 oder mehr Punkten bildeten eine eigene Gruppe (Gruppe 2: $N=10$).

Bei den Männern wurden drei Gruppen unterschieden:

- Männer mit einem AUDIT-C-Score unter 4 Punkten wurden berücksichtigt, sofern sie jünger als 80 Jahre waren, einen $BMI > 18,5 \text{ kg/m}^2$ aufwiesen und eine Pack-Year-Anamnese (PY) von unter 60 hatten (Gruppe 3: $N=33$).
- Männer mit einem AUDIT-C-Score von exakt 4 Punkten (Gruppe 4: $N=14$) und
- Männer mit einem AUDIT-C-Score von 5 oder mehr Punkten (Gruppe 5: $N=12$) wurden ebenfalls separat analysiert.

Die Grenzwerte für riskanten Alkoholkonsum und das Risiko einer alkoholbezogenen Störung wurden geschlechtsspezifisch angepasst: Für Männer lag der Schwellenwert für riskanten Konsum bei 5 Punkten, für Frauen bei 4 Punkten. Das Risiko einer alkoholbezogenen Störung wurde bei Männern ab 4 Punkten und bei Frauen ab 3 Punkten definiert (48).

Diese differenzierte Einteilung ermöglichte eine präzise Analyse unter Berücksichtigung alkoholbezogener Risikoprofile sowie körperlicher und metabolischer Faktoren.

Tabelle 11: Einteilung der Gruppen nach Geschlecht und AUDIT-C. Dargestellt ist die Anzahl der Probanden (N) in den jeweiligen Gruppen. Angegeben sind die Werte für Kontroll- und Komplikationsgruppen getrennt nach Frauen (≥ 3 Punkte und < 3 Punkte) und Männern (≥ 5 Punkte, $= 4$ Punkte und < 4 Punkte)

Frauen

AUDIT-C Punkte	≥ 3	< 3
Kontrollgruppe	61	173
Komplikationsgruppe	10	27

Männer

AUDIT-C Punkte	≥ 5	$= 4$	< 4
Kontrollgruppe	66	57	139
Komplikationsgruppe	12	14	33

2.2.11 Methode der Microarrays

Im weiteren Verlauf der Studie wurde die Microarray-Technologie genutzt, um die relative Expression und Bedeutung spezifischer Zytokine zu untersuchen. Microarray-Technologien ermöglichen eine systematische Erfassung von Genexpressionsprofilen und basieren auf spezifischen Bindungsreaktionen zwischen Nukleinsäuren oder Antikörpern und ihren Zielmolekülen (49-51). Insgesamt kamen zwei Arrays des Herstellers RayBio® zum Einsatz. Dabei fiel die Wahl auf den „Human Cytokine Antibody Array C5“ sowie das „Human Immune Checkpoint Array 1“, da diese eine Vielzahl an immunologisch relevanten Zytokinen enthalten (52, 53). Der Human Cytokine Array C5 ist ein membranbasierter Array, mit dem sich die Expressionswerte von 80

menschlichen Zytokinen nachweisen und vergleichen lassen (53). Der Human Immune Checkpoint Array C1 ist ein weiterer membranbasierter Array, der 23 menschliche Moleküle nachweist, die in T/B-Zellen und antigen präsentierenden Zellen exprimiert werden (52). Diese Zytokine spielen eine Schlüsselrolle bei der Regulierung von Immunprozessen und bieten wertvolle Einblicke in die zugrunde liegenden Mechanismen von Entzündungs- und Abwehrreaktionen (52). Die Auswahl der beiden Microarrays des Herstellers RayBio® erfolgte gezielt im Hinblick auf die spezifischen Fragestellungen der Studie. Zur Minimierung gruppeninterner Variabilität und zur Verbesserung der Vergleichbarkeit wurden die Seren der jeweiligen Probandengruppen zu einem gemeinsamen Pool zusammengeführt. Insgesamt konnten mithilfe dieser Arrays 103 Zytokine simultan erfasst und ausgewertet werden (Tabelle 12).

Tabelle 12: Übersicht der eingesetzten Microarrays einschließlich der Anzahl der pro Membran detektierbaren Zytokine

Zytokinarray (RayBiotech®)	Funktion	Anzahl der Zytokine
Human Cytokine Antibody Array C5	Gleichzeitige Detektion und Vergleich der Expressionsniveaus humaner Zytokine in flüssigen Proben (53)	80
Human Immune Checkpoint Array 1	Detektion humaner Moleküle, die in T – und B- Zellen sowie antigenpräsentierenden Zellen (APCs) exprimiert werden und bei Immun-Checkpoints eine Rolle spielen (52)	23

Nach gründlicher Durchmischung wurden die Serum-Pools in Mikroreaktionsgefäßen homogenisiert und bei -80 °C gelagert. Alle Zytokin-Arrays wurden unter identischen Bedingungen und gemäß den Herstellerprotokollen durchgeführt (52, 53). Um eine gleichmäßige Verteilung der Lösungen zu gewährleisten, erfolgten sämtliche Inkubations- und Waschschr

unter kontinuierlicher, sanfter Rotation. Besondere Sorgfalt wurde daraufgelegt, dass beim Umgang mit den Membranen nur die unbedruckten Ränder mit einer Pinzette berührt wurden. Jede Probe wurde in zwei unabhängigen Durchläufen getestet, um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten.

Vor Beginn der eigentlichen Analyse wurden die Membranen mit der bedruckten Seite nach oben in spezielle Inkubationstabletts gelegt. Anschließend erfolgte eine 30-minütige Inkubation mit 1 ml Blocking Buffer, um unspezifische Bindungen zu reduzieren. Währenddessen wurden die gefrorenen Serum-Pools auf Eis aufgetaut, intensiv mit dem Vortex Schüttler gemischt und anschließend 200 µl pro Membran zum Blocking Buffer hinzugegeben. Die Proben wurden über Nacht bei +4 °C inkubiert, um eine optimale Bindung der Zytokine zu ermöglichen.

Am folgenden Tag begann der Waschprozess: Jede Membran wurde dreimal mit 1 ml Waschpuffer I und anschließend zweimal mit 1 ml Waschpuffer II für jeweils fünf Minuten gereinigt. Danach wurde 1 ml eines biotinylierten Antikörper-Cocktails aufgetragen, gefolgt von einer zweistündigen Inkubation bei Raumtemperatur (RT). Anschließend erfolgte erneut ein Waschschrift mit Waschpuffer I und II, bevor 1 ml Streptavidin-HRP-Lösung auf jede Membran gegeben wurde. Nach einer weiteren zweistündigen Inkubation wurde dieser Waschvorgang wiederholt.

Für die Chemilumineszenz-Erfassung wurden die Membranen nach dem letzten Waschschrift vorsichtig auf eine Glasplatte gelegt. Anschließend wurden etwa 300 µl Enhanced Chemiluminescence (ECL)-Lösung aufgetragen, wobei darauf geachtet wurde, dass die Lösung gleichmäßig verteilt war. Schließlich wurden die Membranen im ChemoCam Imager von Intas positioniert und optimal belichtet, um die Signale zuverlässig mit Hilfe der Software ImageJ zu erfassen.

In Abbildung 2 wurde der Ablauf der Microarray Mechanismus schematisch dargestellt.

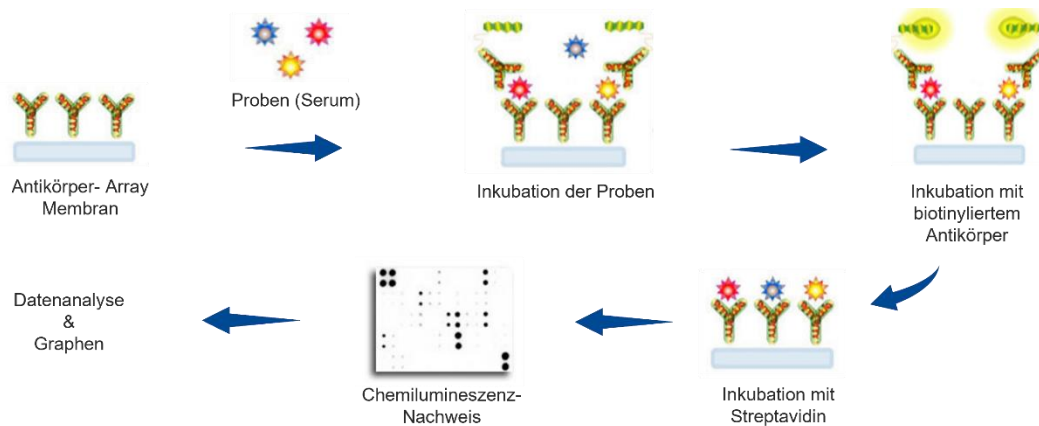


Abbildung 2: Ablauf der Microarrays nach dem RayBio® Protokoll (52, 53). Überarbeitet mit BioRender®

2.2.12 Auswertung der Microarrays

Die Auswertung der Microarrays wurde mithilfe des Bildbearbeitungsprogramms ImageJ (Version 1.54f, NIH, Bethesda, MD, USA) durchgeführt. Jede Probe wurde in Duplikaten getestet, wobei die Zytokine (Targets) auf der Membran des C5-Microarrays jeweils einmal und auf den anderen Arrays jeweils zweimal vorhanden waren. Um die Signalintensitäten der Targets präzise zu analysieren, wurden die Scans zunächst in ImageJ geladen und zu einem Bildstapel zusammengefügt. Für jede Membran wurde ein einheitliches Rechteck definiert, das alle relevanten Bereiche abdeckt, und als Region of Interest (ROI) gespeichert, um die Auswertung konsistent zu halten. Anschließend wurden die Membranen einzeln zugeschnitten und als TIFF-Dateien abgespeichert.

Um die Signaldichten möglichst genau zu messen, wurde der Hintergrund von den Scans abgezogen, und die Punkte auf den Membranen wurden mittels Kreisen markiert. Hierbei wurden Helligkeit und Kontrast automatisch angepasst, um die Zielpunkte besser sichtbar zu machen. Diese Markierungen wurden als allgemeines ROI-Set gespeichert, das für alle Membranen genutzt wurde. Die Kreise konnten anschließend angepasst und ein präzises Raster erstellt werden, das ebenfalls gespeichert wurde.

Die Analyse umfasste neun verschiedene Belichtungszeiten. Die gemessenen Intensitäten der Negativkontrollen wurden von den restlichen Werten subtrahiert,

um eine klare Basis für die Auswertung zu schaffen. Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen verschiedenen Membranen zu gewährleisten, wurden die Daten zunächst auf den Mittelwert (MW) der Positivkontrollen normalisiert. Anschließend wurde für jedes Zytokin der Mittelwert über alle Gruppen hinweg berechnet, auf den die Signalintensitäten der einzelnen Proben normiert wurden. Alternativ erfolgte die Normalisierung durch Berechnung des z-Scores nach folgender Gleichung:

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

Dabei steht z für den z-Score (Standardwert), x für die Signalintensität der jeweiligen Probe (Messwert); μ für den Mittelwert der Signalintensitäten aller Proben für das betreffende Zytokin und σ für die Standardabweichung dieser Signalintensitäten (47).

Durch diese Form der Standardisierung konnte die Abweichung eines individuellen Wertes vom Mittelwert in Einheiten der Standardabweichung angegeben und so die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Zytokinen verbessert werden. Im letzten Schritt wurde die Differenz der normierten Signalintensitäten zwischen der Komplikationsgruppe und der Kontrollgruppe berechnet.

Zur Dokumentation der Ergebnisse wurden verschiedene Parameter wie Fläche, maximale und minimale Grauwertdichte, integrierte Dichte und der Mittelwert der Grauwertdichte gemessen und in Excel-Tabellen erfasst. Jede Membran erhielt eine eigene Tabelle, um die Ergebnisse klar und übersichtlich darzustellen. Auf diese Weise wurde eine standardisierte und präzise Datenauswertung gewährleistet.

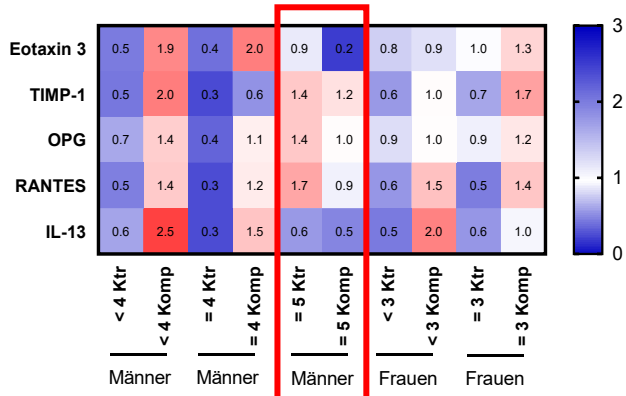
2.2.13 Analyse der Microarrays

Ziel der vorliegenden Studie war es, anhand von zytokinbasierten Serumprofilen frühe Hinweise auf gestörte Wundheilungsprozesse zu identifizieren und potenzielle Risikopatienten entsprechend zu klassifizieren.

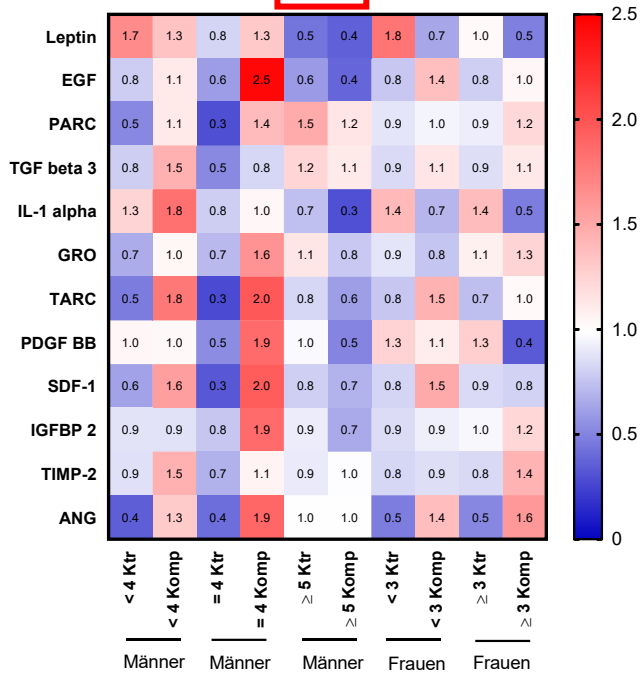
Zur Erfassung der relativen Zytokinkonzentrationen im Blutserum wurden - wie in einem vorhergehenden Abschnitt detailliert beschrieben - kommerziell verfügbare Zytokin-Arrays der Firma RayBio® eingesetzt.

Die Analyse der resultierenden Signalintensitäten erfolgte unter anderem mittels Heat Maps, welche eine differenzierte Visualisierung der Zytokinexpression über die untersuchten Proben hinweg ermöglichten. Auf diese Weise konnten mehrere Zytokine identifiziert werden, die im Kontext der Wundheilung eine potenzielle diagnostische oder prognostische Relevanz aufweisen.

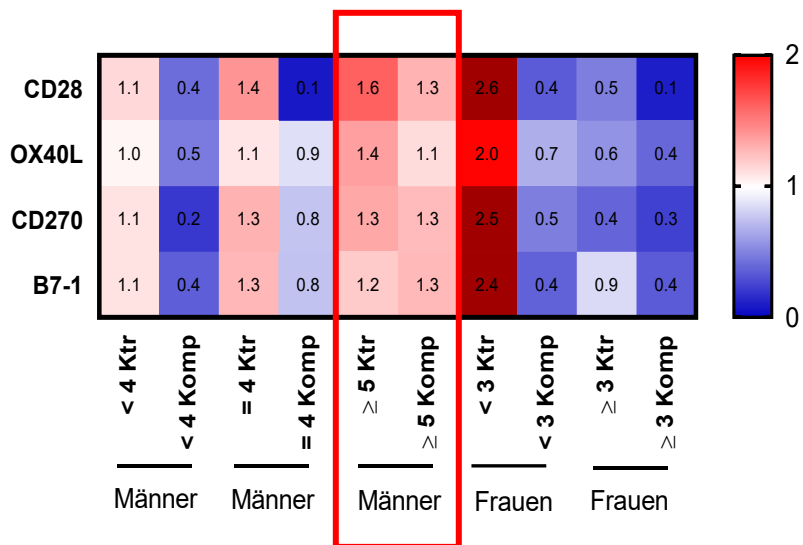
A)



B)



C)



D)

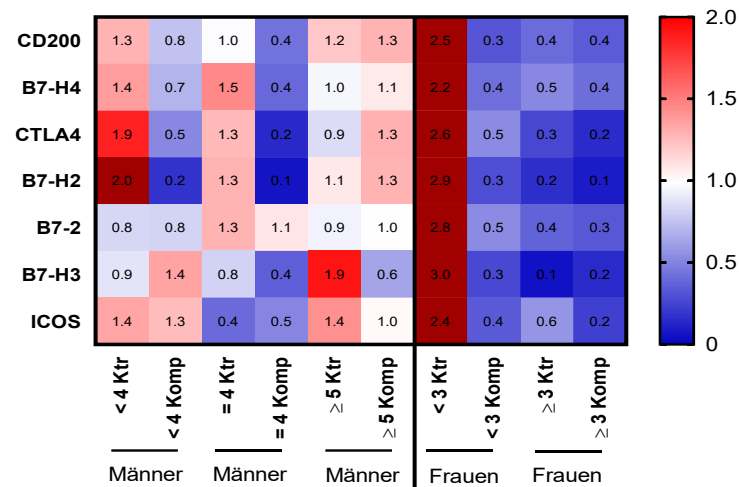


Abbildung 3: Visualisierung der relativen Zytokinkonzentrationen im Serum mittels Heat Maps, getrennt nach Geschlecht. Die Farbskala zeigt Hochregulation (rot) und Herunterregulation (blau) relativ zur Kontrolle, Intensität entspricht der Stärke der Regulation (Skala rechts).: A) In der jeweiligen Komplikationsgruppe hochreguliert. Für Men ≥ 5 z.T. andere Regulation. B) Eine oder mehrere Gruppen haben keinen Unterschied zwischen Kontroll- und Komplikationsgruppe. Z.t. gegensätzliche Regulation. C) In der jeweiligen Komplikationsgruppe herunterreguliert. Für Men ≥ 5 der kleinste Unterschied. D) Eine oder mehrere Gruppen haben keinen Unterschied zwischen Kontroll- und Komplikationsgruppe. Z.t. gegensätzliche Regulation. Anzahl der Probanden (N) in den jeweiligen Gruppen: Männer: < 4 Ktr: N= 155, Komp: N= 42; =4 Ktr: N= 62, Komp: N= 14; ≥ 5 Ktr: N= 70, Komp: N= 12; Frauen < 3: Ktr: N= 224, Komp: N= 46, ≥ 3 Ktr: N= 76, Komp N= 10. Die Werte der Signalintensitäten wurden zweimal normalisiert (zunächst auf den MW der jeweiligen positiv Kontrolle und darauffolgend auf den MW der Signalintensitäten der jeweiligen Zytokine). Rote Rahmen markieren besonders auffällige Veränderungen. Abkürzungen: Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe

Die visualisierte Datenanalyse zeigen deutliche Unterschiede in der Regulation einzelner Zytokine in Abhängigkeit von der jeweiligen Komplikationsgruppe. Die Daten wurden in vier Abbildungen (A–D) unterteilt, um spezifische Regulationsmuster systematisch zu erfassen (Abbildung 3 A–D).

In Abbildung 3A zeigten sich Zytokine mit durchgehend erhöhter Konzentration in den Komplikationsgruppen.

Abbildung 3B enthält Zytokine, bei denen in einer oder mehreren Komplikationsgruppen kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe festgestellt werden konnte. Einige dieser Zytokine zeigen sogar entgegengesetzte Regulationen zwischen unterschiedlichen Gruppen. Dies

weist darauf hin, dass ihre Expression stark vom klinischen Kontext oder individuellen Faktoren abhängt und sie möglicherweise nicht primär die Wundheilung reflektieren.

In Abbildung 3C sind Zytokine dargestellt, die in den Komplikationsgruppen mehrheitlich herunterreguliert waren. Auffällig war zudem, dass bei Patienten mit einem Männer-AUDIT-C Score ≥ 5 die Unterschiede zwischen Kontroll- und Komplikationsgruppe nur minimale Unterschiede aufwiesen.

Abbildung 3D umfasst Zytokine, die in einzelnen Gruppen keine nennenswerten Unterschiede zeigten oder widersprüchliche Veränderungen aufwiesen.

Basierend auf der systematischen Auswertung der Zytokinprofile wurden fünf Moleküle für eine vertiefte Analyse ausgewählt: Eotaxin-3, IL-13, TIMP-1, CD28 und B7-1. Die Entscheidung für diese Auswahl beruhte sowohl auf den in den Heatmaps beobachteten auffälligen Regulationsmustern als auch auf ihrer bekannten funktionellen Relevanz im Kontext der Wundheilung. Diese Zytokine sind maßgeblich an zentralen biologischen Prozessen beteiligt, darunter die Aktivierung von T-Zellen, die Modulation der Entzündungsreaktion sowie der Umbau des Gewebes. Damit stellen sie potenzielle Schlüsselmarker dar, die mit dem postoperativen Verlauf in engem Zusammenhang stehen und zur weiteren Charakterisierung von gestörten Heilungsverläufen herangezogen werden können.

2.2.14 Bestimmung der Zytokinkonzentrationen durch ELISA

Zur Quantifizierung der Zytokinkonzentrationen im Blut der Patienten wurde ein Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) nach dem Sandwich-Prinzip durchgeführt. Hierbei kamen Kits der Hersteller R&D Systems® (Human B7-1/CD80 DuoSet ELISA und Human CD28 DuoSet ELISA) und Peprotech® (Human TIMP-1, Eotaxin-3 und IL-13 Standard ABTS EDK ELISA Development Kits) zum Einsatz. Die Durchführung der Analyse erfolgte gemäß den jeweiligen Herstellerprotokollen unter standardisierten Bedingungen. Das ELISA-Verfahren dient dem Nachweis spezifischer Proteine, wobei ein enzymgekoppelter Antikörper zum Einsatz kommt (54). Dabei sind sogenannte Fängerantikörper (Capture Antibodies) bereits auf der Oberfläche der Mikrotiterplatte fixiert (54).

Der hochspezifische Sandwich-ELISA ermöglicht den Nachweis von Biomolekülen (55). Hierbei wird das Zielprotein durch zwei spezifische Antikörper erkannt, wobei der erste an der Mikrotiterplatte fixiert ist und der zweite ein weiteres Epitop des Antigens detektiert (54). Beim Sandwich-ELISA wird zunächst ein Fänger-Antikörper auf eine Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen aufgetragen (54, 56). Anschließend wird die Patientenprobe hinzugegeben. Enthält diese das Zielprotein, bindet es spezifisch an den Fänger-Antikörper und wird so auf der Platte fixiert. Danach folgt ein Detektionsantikörper, der an eine weitere Stelle (Epitop) des gebundenen Proteins bindet (54). Durch die Zugabe einer Substratlösung entsteht eine Farbreaktion, deren Intensität proportional zur Menge des gesuchten Proteins ist (54). Dank der Verwendung von zwei unterschiedlichen Antikörpern ist diese Methode besonders spezifisch und zuverlässig (54). Im Folgenden wird der Ablauf des im Labor durchgeführten Sandwich-ELISAs detailliert erläutert.

Zunächst wurden 96-Well-Mikrotiterplatten mit spezifischen Capture-Antikörpern beschichtet, die an das zu detektierende Antigen binden konnten. Diese Platten wurden über Nacht inkubiert, um eine optimale Antikörperfixierung zu gewährleisten. Am darauffolgenden Tag erfolgte eine mehrfache Reinigung der Wells mit Waschpuffer (0,05 % Tween-20 in PBS), um ungebundene Substanzen zu entfernen. Anschließend wurden die Wells mit einem Blockierungspuffer (1 % BSA in PBS) behandelt, um unspezifische Bindungen zu minimieren.

Die vorbereiteten Patientenproben wurden daraufhin in Duplikaten auf die Wells pipettiert und für zwei Stunden inkubiert, sodass sich die in den Proben enthaltenen Zielproteine an die fixierten Antikörper binden konnten. Parallel wurde eine Standardreihe zur Kalibrierung in Triplikaten mitgeführt. Nach einer erneuten Waschphase wurde ein biotinylierter Detektionsantikörper zugegeben, der spezifisch an das gebundene Antigen band. Eine weitere Inkubationszeit wurde eingehalten, bevor die Wells erneut gereinigt wurden.

Zur Signalverstärkung wurde anschließend eine Streptavidin-Horseradish-Peroxidase (HRP) hinzugefügt, die sich an den Detektionsantikörper heftete und

als Enzym die folgende Farbreaktion katalysierte. Diese wurde durch Zugabe der jeweiligen Substratlösung eingeleitet. Während bei R&D Systems® Tetramethylbenzidin (TMB) als Substrat verwendet wurde, kam bei Peprotech® die ABTS-Lösung zum Einsatz. In beiden Fällen führte die enzymatische Reaktion zu einer Farbveränderung, deren Intensität mit der Menge des gebundenen Antigens korrelierte.

Nach einer weiteren definierten Inkubationszeit wurde bei R&D Systems® die Reaktion durch die Zugabe einer Stopplösung (2 N H₂SO₄) gestoppt, wodurch sich das blaue Zwischenprodukt in eine gelbe Endfarbe wandelte. Bei Peprotech® hingegen wurde keine Stopplösung verwendet, sondern die optische Dichte direkt nach 30, 60 und 90 Minuten gemessen. Die Absorption der farbigen Endprodukte erfolgte bei 450 nm für R&D Systems® für Peprotech®, mit einer zusätzlichen Hintergrundmessung bei 650 nm.

Durch dieses standardisierte Vorgehen konnte eine präzise und zuverlässige Bestimmung der Zytokinkonzentrationen erreicht werden, wobei die Intensität der Farbreaktion als Maß für die vorhandene Menge des gesuchten Proteins diente.

2.2.15 ELISA Datenauswertung

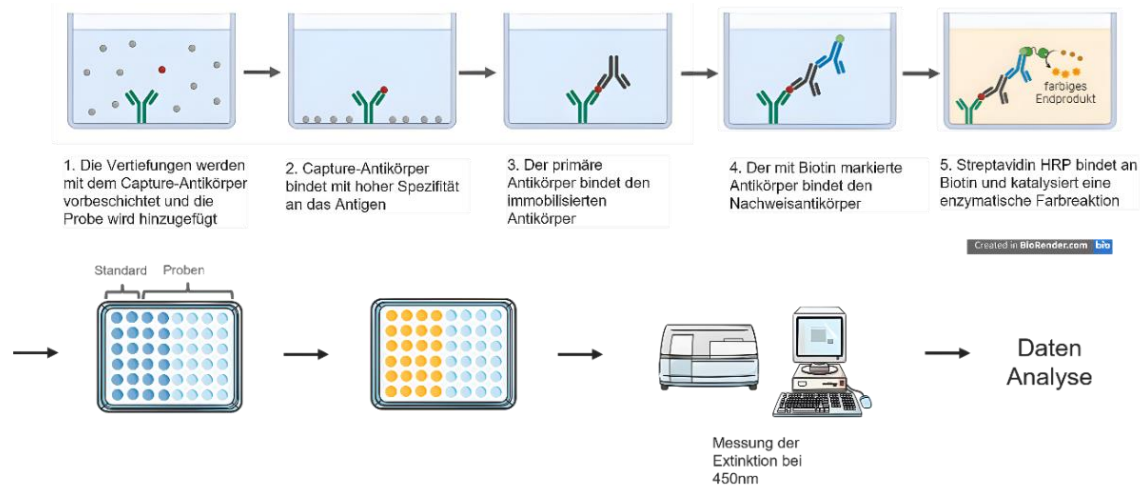


Abbildung 4: Ablauf der ELISA am Beispiel von (R&D Systems®). Erstellt mit BioRender®

Die Analyse der gemessenen Lichtabsorption erfolgte unter Verwendung der Software Microsoft Excel®. Dabei wurde die Absorption gegen die logarithmische (\log_{10}) Konzentration in einer Standardkurve aufgetragen. Werte, die ober- oder unterhalb der Standardkurve lagen, wurden bei der Auswertung ausgeschlossen. Die Konzentrationen, die aus der Standardkurve abgelesen wurden, multiplizierte man durch den entsprechenden Verdünnungsfaktor der Proben, um die endgültige Konzentration der Proben zu ermitteln (Abbildung 4).

2.2.16 Erweiterte Analyse zur Bewertung geschlechtsübergreifender Aussagekraft potenzieller Biomarker

Im Rahmen der erweiterten Analyse zur Bewertung der geschlechtsübergreifenden Aussagekraft potenzieller Biomarker wurde eine einheitliche und quantifizierbare Einteilung in Risikogruppen auf Grundlage des AUDIT-C (Alcohol Use Disorders Identification Test - Consumption) vorgenommen (35, 57, 58). Dabei erfolgte die Zuordnung von Frauen und Männern zu Risiko- oder Kontrollgruppen anhand etablierter, geschlechtsspezifischer Schwellenwerte (57).

Die zugrunde gelegte Definition orientiert sich an den Empfehlungen des National Institute on Drug Abuse (NIDA), wie sie im Rahmen der Common Data Elements (CDE) für klinische Forschung veröffentlicht wurden (58). Zur besseren

Vergleichbarkeit und geschlechterübergreifenden Auswertung der erhobenen Daten wurden diese Kategorien für die vorliegende Untersuchung wie folgt zusammengeführt:

Positiv (riskanter oder aktiver Alkoholkonsum):

- Frauen mit einem AUDIT-C-Punktwert von ≥ 3
- Männer mit einem AUDIT-C-Punktwert von ≥ 4

Negativ (geringes bis kein Risiko für Alkoholkonsumstörungen):

- Frauen mit einem AUDIT-C-Punktwert von ≤ 2
- Männer mit einem AUDIT-C-Punktwert von ≤ 3

Diese Einteilung ermöglichte eine standardisierte Risikostratifizierung im Hinblick auf Alkoholkonsumverhalten und bildete die Grundlage für die geschlechtsübergreifende Auswertung potenzieller Biomarker.

2.2.17 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der erhobenen Daten kamen mehrere Softwareprogramme zum Einsatz, darunter Microsoft Excel (Version 16.0.16626.20170, USA), GraphPad Prism (Version 8.0.1, USA) und JMP (Version 16.2.0, SAS Institute, USA). Zur Analyse und Visualisierung der Ergebnisse wurden unterschiedliche Darstellungsformen wie Tabellen, Heat Maps, Box-Plots, Violin-Plots sowie Receiver-Operating-Characteristic-Kurven (ROC-Kurven) verwendet.

Zur Identifikation von Ausreißern wurden die Messwerte mit der „Column Analysis - Identify Outliers“-Funktion in GraphPad Prism (ROUT 0,1 %) analysiert. Die endgültige Anzahl der verbleibenden Datenpunkte (N) nach dem Ausschluss von Ausreißern wurde unter den jeweiligen Abbildungen angegeben. Boxplots zur Darstellung der Wertverteilung wurden mit Mittelwert und Standardabweichung (SD) erstellt, wobei die Whisker bis zum 5. und 95. Perzentil reichten. Punkte außerhalb dieser Bereiche wurden separat dargestellt. Verteilungshistogramme für eine detaillierte Übersicht der Messwertverteilungen wurden mithilfe von JMP generiert.

Für statistische Tests wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test (GraphPad Prism) zur Analyse von Unterschieden zwischen zwei unabhängigen Gruppen angewandt, wenn keine Normalverteilung vorlag. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0.001$ (***) ; $p < 0.0001$ (****) festgelegt. Ein p- Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Ergänzend dazu kam der parametrische One-Way-ANOVA-F-Test (GraphPad Prism) für Vergleiche innerhalb von normalverteilten Gruppen zum Einsatz. Ergebnisse ohne statistische Signifikanz (ns) wurden, sofern es die Übersichtlichkeit erleichterte, nicht in den Box-Plots dargestellt.

Die ROC-Kurvenanalyse wurde durchgeführt, um die diagnostische Aussagekraft von Biomarkern zu bewerten. Dabei wurden Sensitivität und Spezifität ins Verhältnis gesetzt, und die Fläche unter der Kurve (AUC) sowie das 95%-Konfidenzintervall (CI) berechnet. Der optimale Cut-off-Wert wurde mittels Youden-Index in Microsoft Excel bestimmt.

Die gesamte statistische Analyse wurde am 09.05.25 im Rahmen einer Beratung mit Herrn Prof. Dr. Blumenstock, stellvertretender Leiter des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie in Tübingen, besprochen und optimiert, um die wissenschaftliche Validität der Ergebnisse sicherzustellen.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkollektiv

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden entsprechend ihrer klinischen Diagnose verschiedenen Abteilungen zugewiesen (Abbildung 5). Dabei wurden 44 % der Patienten in der Traumaabteilung, 20 % in der Abteilung für septische Chirurgie und 36 % in der Endoprothesenabteilung behandelt. Die Kohorte bestand aus 559 Frauen und 587 Männern, die sich aufgrund eines Traumas oder einer geplanten elektiven Operation in stationärer Behandlung an der BGU Tübingen befanden und die festgelegten Einschlusskriterien erfüllten.

Abteilungen

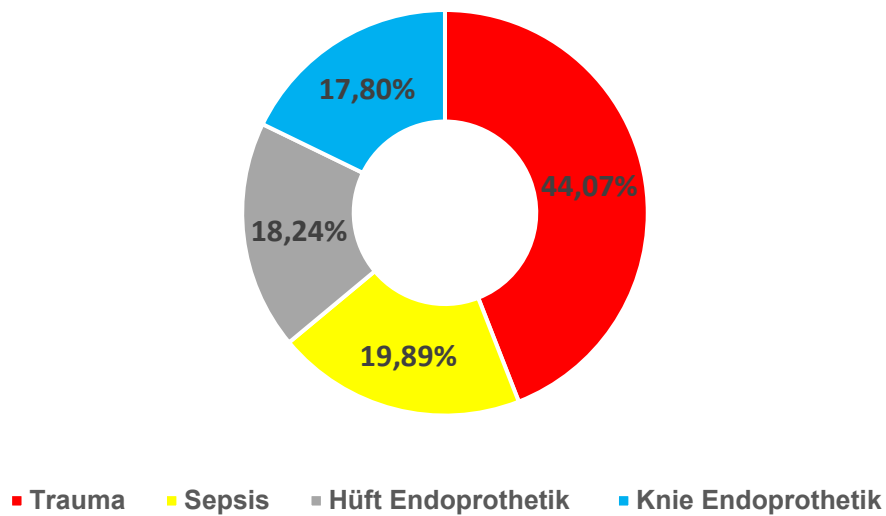


Abbildung 5: Einteilung der Abteilungen der BGU in Tübingen

Vor der finalen Analyse mussten 435 Patienten ausgeschlossen werden, da entweder keine Blutproben verfügbar waren oder vorbestehende, diagnose- oder therapiebedingte Komplikationen vorlagen. Nach Anwendung dieser Ausschlusskriterien verblieb eine Studienpopulation von 711 Patienten, darunter 335 Männer und 356 Frauen (Abbildung 6).

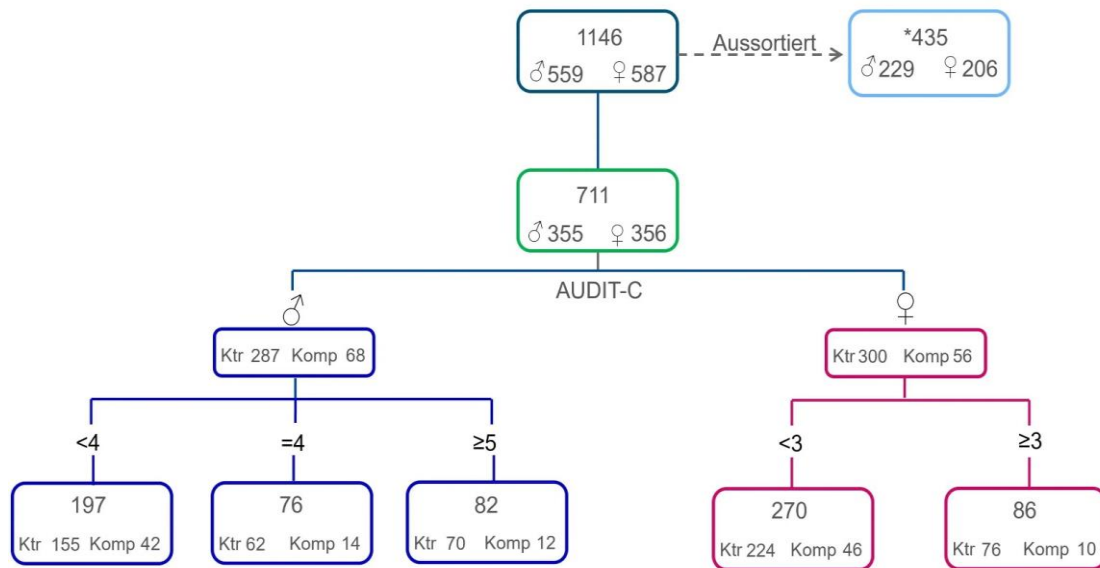


Abbildung 6: Clusterdiagramm zur Übersicht und Einteilung des Patientenkollektivs. N = Probandenzahl je Gruppe. Dargestellt ist der Auswahlprozess vom initialen Kollektiv (N = 1146) bis zur finalen Studienpopulation (N = 711) nach Anwendung der Ausschlusskriterien*. Die Einteilung erfolgte nach Geschlecht (blau = männlich, rot = weiblich) und AUDIT-C-Score (< 4, = 4 bzw. ≥ 5 bei Männern; < 3 bzw. ≥ 3 bei Frauen). „Ktr“ = Kontrollgruppe, „Komp“ = Komplikationsgruppe. Ausschlusskriterien: Vorbestehende Komplikation (N = 96), anderer Ausschlussgrund (N = 16), eingriffsassoziiert (N = 8), Diagnose assoziiert (N = 7), kein Follow-up oder keine Blutproben (N = 309)

3.1.1 Geschlechterspezifische Unterschiede: Datenanalyse basierend auf dem standardisierten Fragenkatalog

Bei den männlichen Patienten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Anzahl der Pack Years zwischen den Kontroll- und Komplikationsgruppen, unabhängig von der AUDIT-C-Klassifikation (<4, =4, ≥5 Punkte) (vgl. Abbildung 7). Im Gegensatz dazu zeigten sich bei den weiblichen Patienten deutliche Unterschiede: In der Gruppe mit einem AUDIT-C-Score < 3 wiesen Patienten mit Komplikationen signifikant höhere Pack Years auf als die Patienten der Kontrollgruppe (p < 0,01). Bei Patienten mit einem AUDIT-C-Score ≥ 3 zeigten sich hingegen keine signifikanten Unterschiede im Nikotinkonsum zwischen den Gruppen (Abbildung 7).

Pack Years

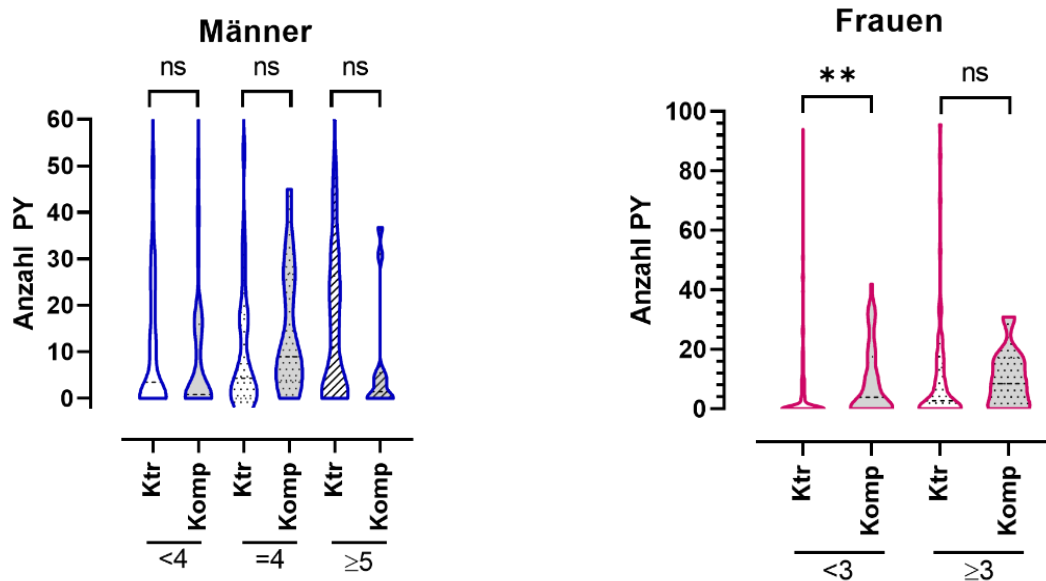


Abbildung 7: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Pack Years (PY) getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer AUDIT -C <4: Ktr: N= 155, Komp: N= 42; AUDIT - C = 4: Ktr: N= 62, Komp: N= 14; AUDIT - C ≥5: Ktr: N= 70, Komp: N= 12. Frauen AUDIT - C <3: Ktr: N= 224, Komp: N= 46; AUDIT - C ≥ 3: Ktr: N= 76, Komp N= 10

Auch das Alter unterschied sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Bei den weiblichen Patientinnen zeigte sich hingegen in der Gruppe mit einem AUDIT-C-Score < 3 ein signifikanter Altersunterschied: Patienten mit Komplikationen waren im Durchschnitt älter als jene ohne Komplikationen ($p < 0,01$). In der Gruppe mit einem AUDIT-C-Score ≥ 3 bestanden dagegen keine signifikanten Altersunterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 8).

Alter

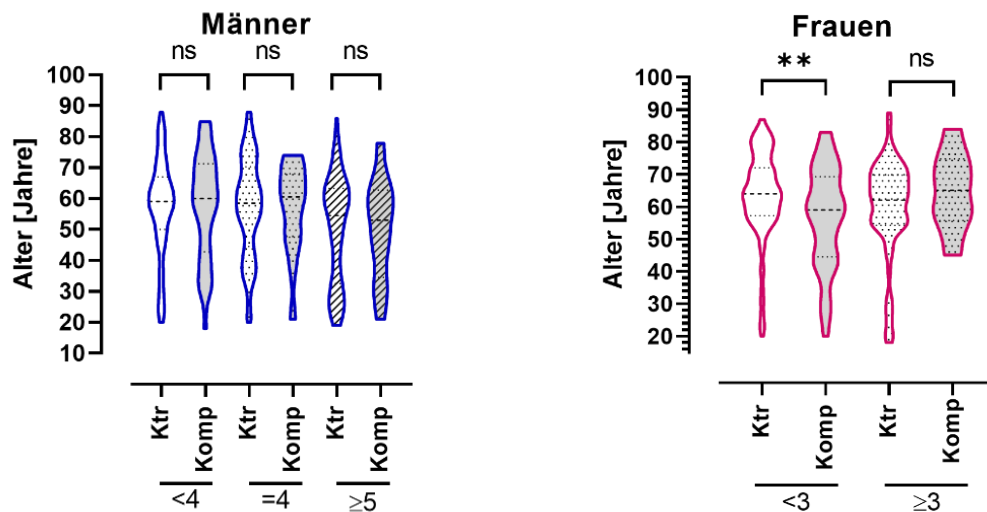


Abbildung 8: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Alter getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. AUDIT -C <4: Ktr: N= 155, Komp: N= 42; AUDIT - C = 4: Ktr: N= 62, Komp: N= 14; AUDIT - C ≥5: Ktr: N= 70, Komp: N= 12. Frauen AUDIT - C <3: Ktr: N= 224, Komp: N= 46; AUDIT - C ≥ 3: Ktr: N= 76, Komp: N= 10

Neben den Pack Years und dem Alter zeigten sich bei den männlichen Patienten auch signifikante Unterschiede im BMI in Abhängigkeit vom Komplikationsstatus. Innerhalb der Gruppe mit einem AUDIT-C-Score von =4 war der BMI in der Komplikationsgruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$). Auch bei den weiblichen Patienten war der BMI in der Komplikationsgruppe bei einem AUDIT-C-Score <3 signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Abbildung 9).

BMI

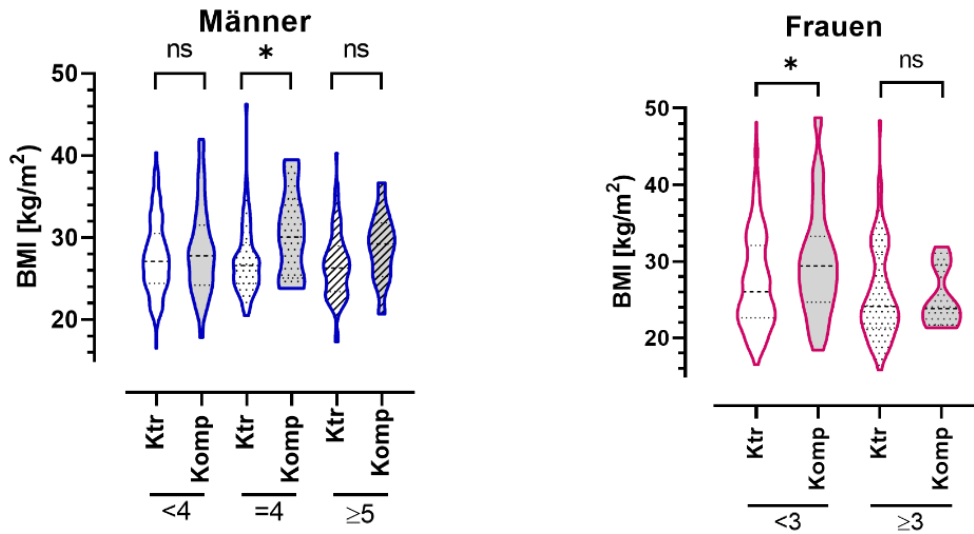


Abbildung 9: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - BMI getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. AUDIT - C <4: Ktr.: N= 155, Komp: N= 42; AUDIT - C = 4: Ktr: N= 62, Komp: N= 14; AUDIT - C ≥5: Ktr: N= 70, Komp: N= 12. Frauen AUDIT - C <3: Ktr: N= 224, Komp: N= 46; AUDIT - C ≥ 3: Ktr: N= 76, Komp: N= 10

Abschließend zeigte der FINDRISK-Score insbesondere bei männlichen Patienten mit einem AUDIT-C-Score von 4 einen signifikanten Unterschied zwischen Komplikations- und Kontrollgruppe ($p < 0,05$) (Abbildung 10).

FINDRISK

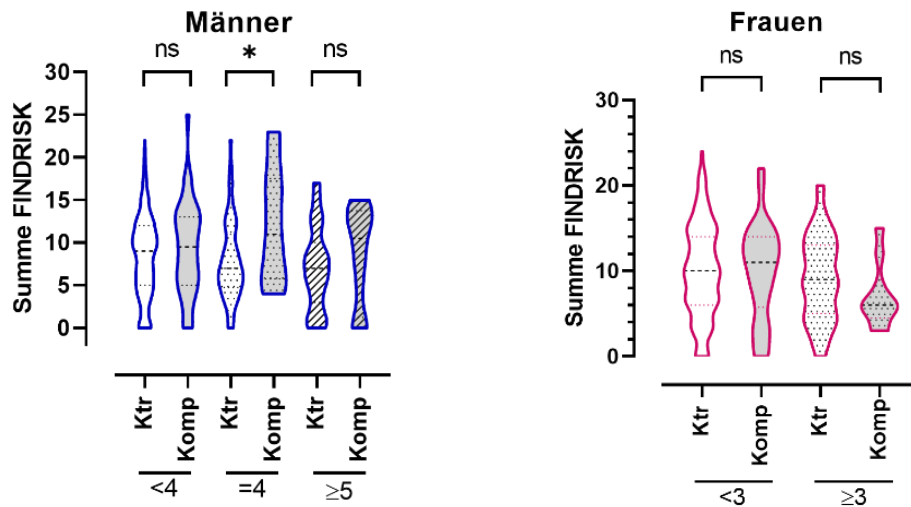


Abbildung 10: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - FINDRISK getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. AUDIT -C <4: Ktr.: N= 155, Komp: N= 42; AUDIT - C = 4: Ktr: N= 62, Komp: N= 14; AUDIT - C ≥5: Ktr: N= 70, Komp: N= 12. Frauen AUDIT - C <3: Ktr: N= 224, Komp: N= 46; AUDIT - C ≥ 3: Ktr: N= 76, Komp: N= 10

Zusammenfassend, zeigen die Ergebnisse, dass insbesondere bei Frauen mit niedrigem Alkoholkonsum ein höheres Alter und eine stärkere Nikotinbelastung Risikofaktoren für die Entwicklung von Komplikationen darstellen, während bei Männern diese Faktoren keinen signifikanten Einfluss zeigten.

3.2 Ergebnisse der ELISA

Die ELISA-Analysen wurden an einem Kollektiv von insgesamt 318 Patientenproben durchgeführt, wobei sämtliche verfügbaren Serumproben einbezogen wurden.

Eotaxin-3

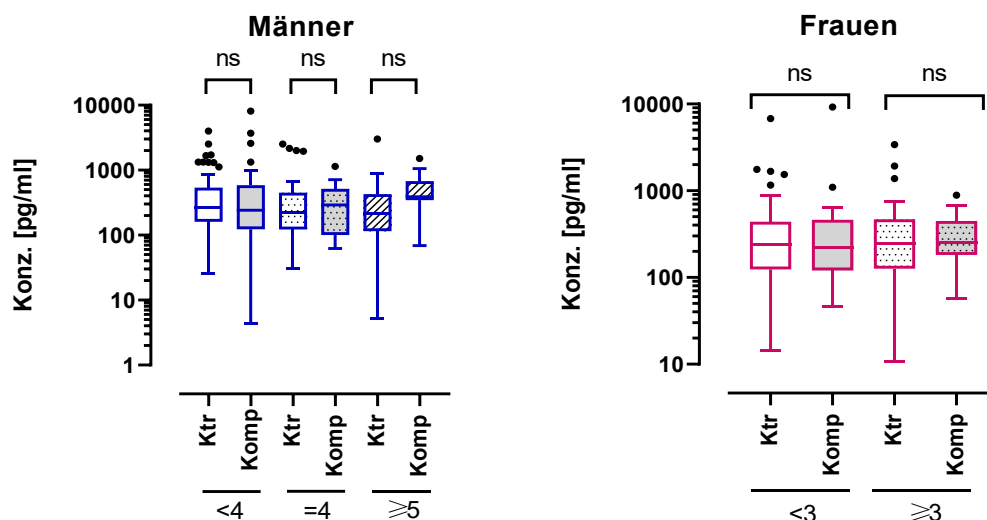


Abbildung 11: Boxplots zur Darstellung Eotaxin-3 Konzentrationen getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Frauen AUDIT-C < 3: Ktr: N= 46, Komp: N= 27; ≥: Ktr: N= 42, Komp: N= 10; Männer AUDIT.- C < 4: Ktr: N= 52, Komp: N= 33; =4: Ktr: N= 42, Komp: N= 14; ≥ 5: Ktr: N= 41, Komp: N= 11

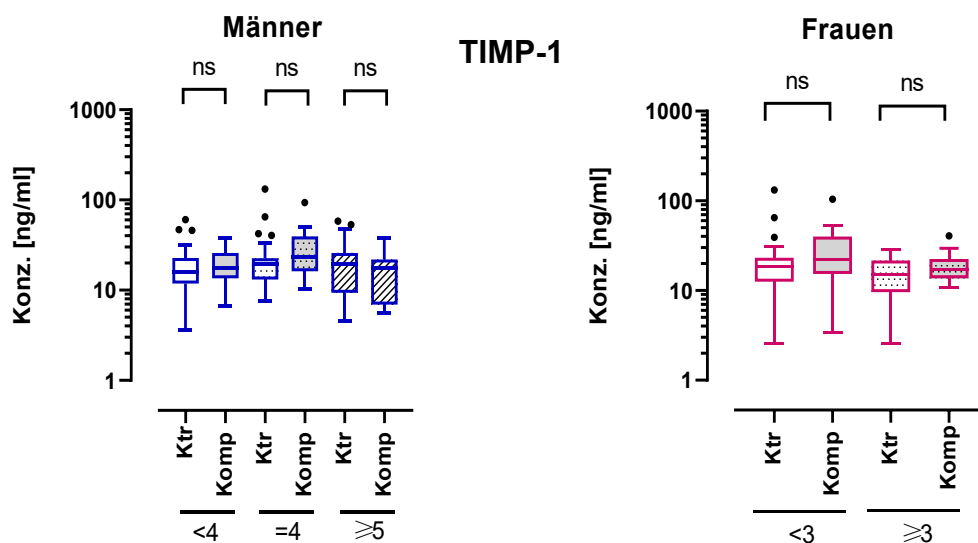


Abbildung 12: Boxplots zur Darstellung TIMP-1 Konzentrationen getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Frauen AUDIT-C < 3: Ktr: N= 46, Komp: N= 27; ≥: Ktr: N= 42, Komp: N= 10; Männer AUDIT.- C < 4: Ktr: N= 52, Komp: N= 33; =4: Ktr: N= 42, Komp: N= 14; ≥ 5: Ktr: N= 41, Komp: N= 11

CD-28

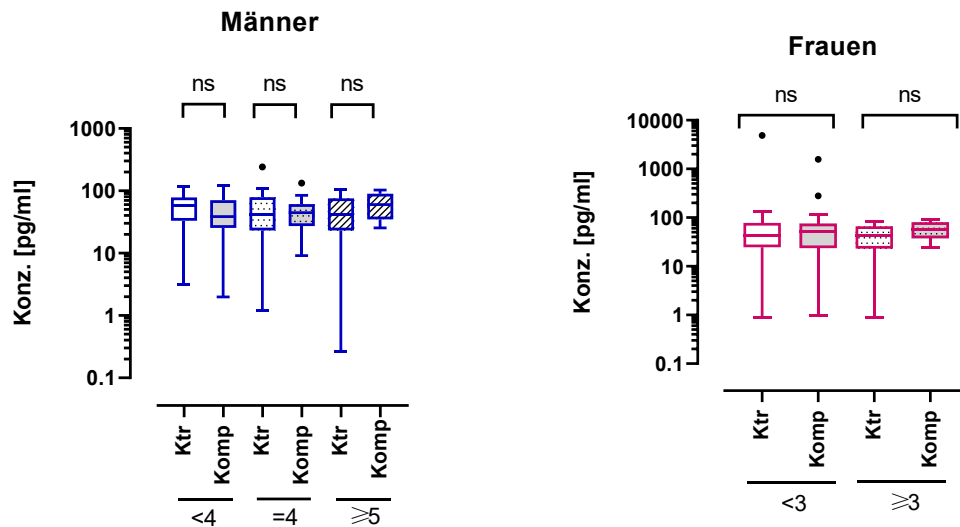


Abbildung 13: Boxplots zur Darstellung der CD-28 Konzentrationen getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Frauen AUDIT-C < 3: Ktr: N= 46, Komp: N= 27; ≥: Ktr: N= 42, Komp: N= 10; Männer AUDIT.- C < 4: Ktr: N= 52, Komp: N= 33; =4: Ktr: N= 42, Komp: N= 14; ≥ 5: Ktr: N= 41, Komp: N= 11

B7-1

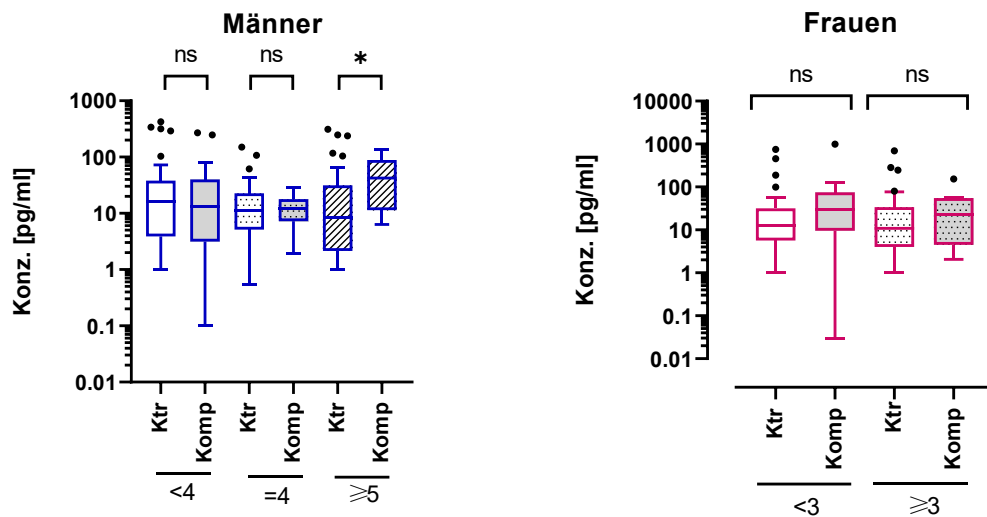


Abbildung 14: Boxplots zur Darstellung der B7-1 Konzentrationen getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Frauen AUDIT-C < 3: Ktr: N= 46, Komp: N= 27; ≥: Ktr: N= 42, Komp: N= 10; Männer AUDIT.- C < 4: Ktr: N= 52, Komp: N= 33; =4: Ktr: N= 42, Komp: N= 14; ≥ 5: Ktr: N= 41, Komp: N= 11

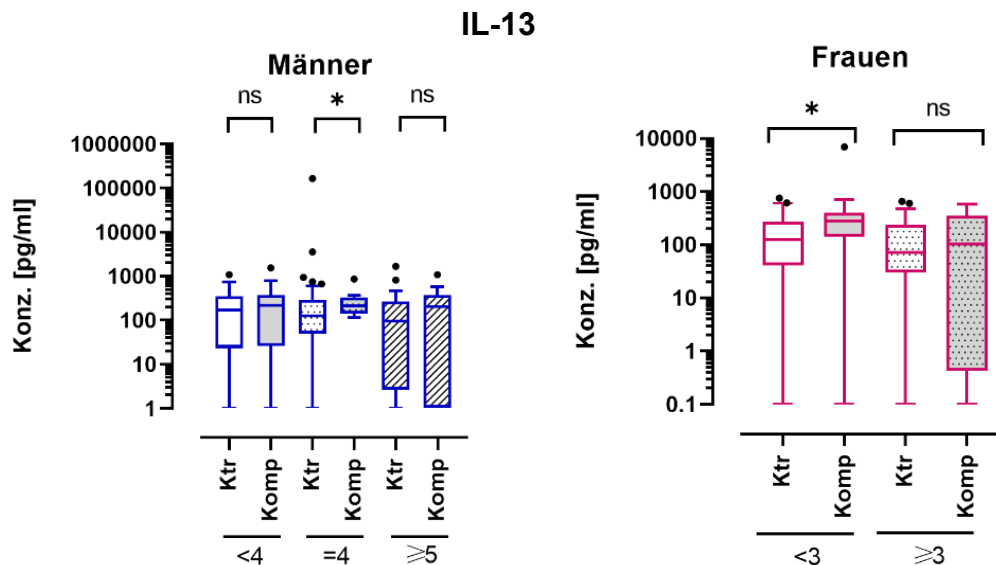


Abbildung 15: Boxplots zur Darstellung der IL-13 Konzentrationen getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Frauen AUDIT-C < 3: Ktr: N= 46, Komp: N= 27; ≥: Ktr: N= 42, Komp: N= 10; Männer AUDIT.- C < 4: Ktr: N= 52, Komp: N= 33; =4: Ktr: N= 42, Komp: N= 14; ≥ 5: Ktr: N= 41, Komp: N= 11

Die Analyse der mittels ELISA gemessenen Konzentrationen von Eotaxin-3, TIMP-1 und CD28 zeigte sowohl bei Männern als auch bei Frauen keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe mit postoperativen Komplikationen (Abbildung 11, 12 und 13).

Die Analyse der B7-1-Konzentrationen bei männlichen Patienten zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontroll- und Komplikationsgruppe für die Subgruppen mit einem AUDIT-C-Score < 4 sowie = 4. In der Subgruppe mit einem AUDIT-C-Score ≥ 5 ließ sich hingegen ein Trend zu erhöhten B7-1-Konzentrationen in der Komplikationsgruppe beobachten, der jedoch das Signifikanzniveau nur knapp erreichte ($p < 0,05$) (Abbildung 14).

Bei den weiblichen Patienten ergab die Auswertung der IL-13-Konzentrationen signifikant höhere Werte in der Komplikationsgruppe bei einem AUDIT-C-Score < 3 ($*p < 0,05$). In der Gruppe mit einem AUDIT-C-Score ≥ 3 waren hingegen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen

erkennbar. Bei den Männern zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der Kontroll- und Komplikationsgruppe mit einem AUDIT-C-Score =4 (Abbildung 15).

3.2.1 B7-1 bei Männern mit AUDIT-C \geq 5

Zur Beurteilung der diagnostischen Leistungsfähigkeit des Biomarkers B7-1 bei männlichen Probanden mit einem AUDIT-C-Score \geq 5 wurde eine ROC-Analyse durchgeführt (Abbildung 16). Die resultierende Fläche unter der Kurve (AUC) betrug 0,7273 (95 %-Konfidenzintervall: 0,5810–0,8736; $p = 0,0216$), was auf eine moderate, statistisch signifikante Diskriminationsfähigkeit des Markers hinweist.

Mittels Youden-Index konnte ein optimaler Schwellenwert von $> 10,65$ pg/ml für die B7-1-Konzentration identifiziert werden. An diesem Cut-off-Wert ergeben sich eine Sensitivität von 81,82 % sowie eine Spezifität von 53,66 %. Dies bedeutet, dass ein Großteil der tatsächlich betroffenen Personen korrekt als positiv erkannt wird, während die Falsch-Positiv-Rate bei ca. 46 % liegt.

Der Vergleich der ROC-Kurven über verschiedene Altersgruppen bzw. AUDIT-C Ausprägungen zeigt, dass insbesondere die Subgruppe der Männer mit einem AUDIT-C-Score \geq 5 die höchste diagnostische Güte aufweist. Bei niedrigeren Scores (< 5) fällt die Trennschärfe des Biomarkers deutlich geringer aus, was durch eine flachere Kurvenverläufe und niedrigere AUC-Werte verdeutlicht wird (Abbildung 16 und Tabelle 13).

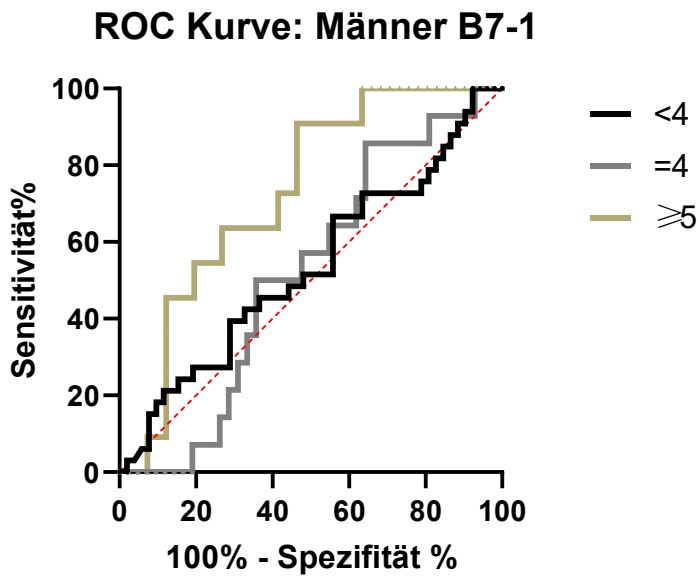


Abbildung 16: Roc Kurve: Zytokin B7-1 bei Männern getrennt nach AUDIT-C-Kategorie (< 4 = schwarz, = 4 = grau, ≥ 5 = gold). Darstellung der Sensitivität (%) in Abhängigkeit von 100 % – Spezifität (%)

Tabelle 13: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten für Männer B7 -1 (vgl. Abbildung 16)

Geschlecht (Männer)	AUC (95% KI)	Cut - off [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	Youden - Index	Likelihood ratio
AUDIT - C < 4	0.53 (0.40 - 0.66)	7,22	39,39	69,23	8,62	1,28
AUDIT - C = 4	0.51 (0.51 - 0.67)	14,52	42,86	64,29	7,15	1,20
AUDIT - C ≥ 5	0.72 (0.58 - 0.87)	10,65	81,82	53,66	35,48	1,77

3.2.2 IL-13 bei Frauen mit AUDIT-C <3

Zur Untersuchung des prädiktiven Werts von IL-13 als potenziellem Risikomarker für Komplikationen wurde eine ROC-Analyse bei weiblichen Patientinnen mit unterschiedlichen Alkoholkonsumprofilen durchgeführt, unterteilt nach AUDIT-C-Scores (Abbildung 17).

Für Frauen mit einem AUDIT-C-Score < 3 ergab sich eine AUC von 0,64 (95 %-KI: 0,5016–0,7786; $p = 0,0468$). Diese Resultate weisen auf eine statistisch signifikante und klinisch relevante Trennschärfe hin. Der ermittelte Cutoff-Wert lag bei einer IL-13-Konzentration von $> 146,1$ pg/ml, mit einer Sensitivität von 74,07 % und einer Spezifität von 52,17 %. Der entsprechende Youden-Index bestätigt die diagnostische Effizienz auf moderatem Niveau.

Demgegenüber zeigten Frauen mit einem AUDIT-C-Score ≥ 3 eine AUC von 0,5405 (95 %-KI: 0,3159–0,7651; $p = 0,6931$), was auf eine geringere Trennschärfe und fehlende statistische Signifikanz hinweist. Für diese Gruppe lag der optimale Cutoff-Wert bei einer IL-13-Konzentration von $> 145,8$ pg/ml, bei einer deutlich niedrigeren Sensitivität von 40,00 % und einer Spezifität von 64,29 %.

In der Gegenüberstellung deutet sich an, dass der prädiktive Wert von IL-13 für Komplikationen insbesondere bei Frauen mit alkoholbezogenen Störungen (AUDIT-C < 3) stärker ausgeprägt ist. Die höhere AUC sowie die ausgewogeneren Werten für Sensitivität und Spezifität in dieser Subgruppe legen nahe, dass IL-13 hier eine größere diagnostische Relevanz besitzt. Umgekehrt erscheint der Marker in der Gruppe mit AUDIT-C ≥ 3 diagnostisch weniger leistungsfähig (Abbildung 17 und Tabelle 14).

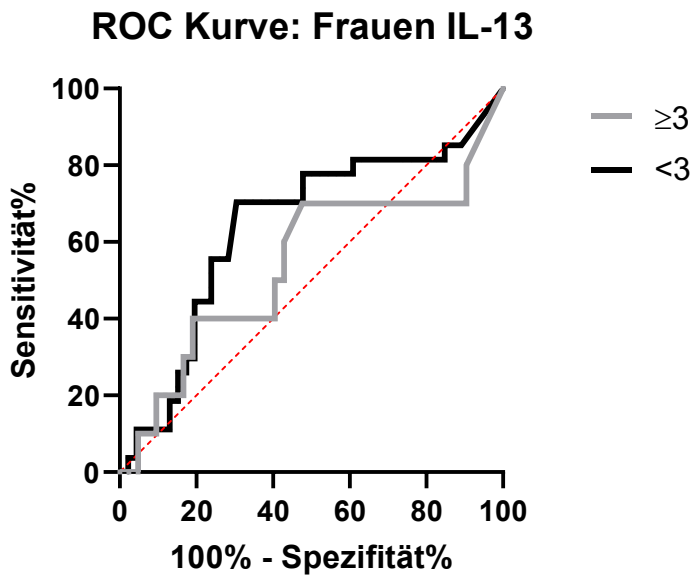


Abbildung 17: Roc Kurve: Zytokin IL-13 bei Frauen getrennt nach AUDIT-C-Kategorie ($< 3 =$ schwarz, $\geq 3 =$ grau). Darstellung der Sensitivität (%) in Abhängigkeit von 100 % – Spezifität (%)

Tabelle 14: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten bei Frauen IL -13 (vgl. Abbildung 17)

Geschlecht (Frauen)	AUC (95% KI)	Cut - off [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	Youden - Index	Likelihood ratio
AUDIT - C < 3	0.64 (0.50 - 0.77)	$> 146,1$	74,07	52,17	26,24	1,55
AUDIT - C ≥ 3	0.54 (0.32– 0.77)	$> 145,8$	40,00	64,29	4,29	1,12

3.2.3 IL-13 bei Männern mit AUDIT-C = 4

Die ROC-Kurve zeigt, dass IL-13 als potenzieller Risikomarker für Komplikationen besonders bei Männern mit einem AUDIT-C Score von genau 4 eine auffällige diagnostische Aussagekraft besitzt (Abbildung 18). In dieser Gruppe liegt die AUC bei 0,6845 (95 % KI: 0,5499–0,8192; $p = 0,0401$), was auf eine moderate, aber statistisch signifikante Trennschärfe hinweist. Bei einer IL-13-Konzentration von über 138,9 pg/ml zeigt sich eine vergleichsweise hohe Sensitivität von 78,57 % und eine moderate Spezifität von 52,38 %. Das spricht

dafür, dass IL-13 gerade in dieser Patientengruppe ein relevanter Hinweisgeber für das Risiko von Komplikationen sein könnte.

Im Gegensatz dazu ist die Aussagekraft von IL-13 bei Männern mit einem AUDIT-C-Wert <4 (AUC = 0,5388; $p = 0,5487$) oder ≥ 5 (AUC = 0,5843; $p = 0,3945$) deutlich geringer und nicht statistisch signifikant. Die jeweiligen IL-13-Konzentrationen ($>229,6$ pg/ml bzw. $>339,2$ pg/ml) liefern niedrigere Sensitivitätswerte und damit eine eingeschränkte klinische Relevanz.

Insgesamt deutet das Ergebnis darauf hin, dass IL-13 speziell bei Männern mit einem mittleren Alkoholkonsum (AUDIT-C = 4) ein potenzieller Marker zur Abschätzung des Komplikationsrisikos sein könnte und daher in dieser Subgruppe weiter untersucht werden sollte (Abbildung 18 und Tabelle 15).

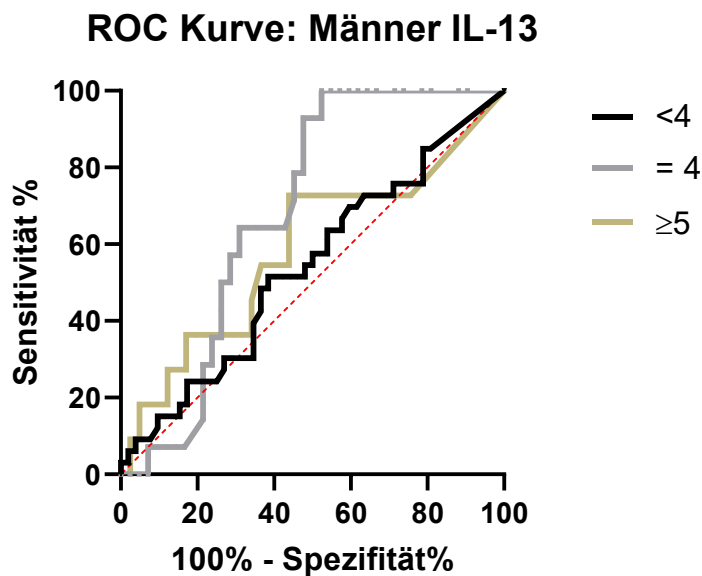


Abbildung 18: Roc Kurve: Zytokin IL-13 bei Männern getrennt nach AUDIT-C-Kategorie ($< 4 =$ schwarz, $= 4 =$ grau, $\geq 5 =$ gold). Darstellung der Sensitivität (%) in Abhängigkeit von 100 % – Spezifität (%)

Tabelle 15: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten bei Männern IL -13 (vgl. Abbildung 18)

Geschlecht (Frauen)	AUC (95% KI)	Cut - off [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	Youden - Index	Likelihood ratio
AUDIT - C < 4	0.54 (0.41 - 0.67)	> 229,6	48,48	61,54	10,02	1,34
AUDIT - C = 4	0.68 (0.55– 0.82)	> 138,9	78,57	52,38	30,95	1,95
AUDIT - C ≥ 5	0.58 (0.38– 0.79)	>339,2	27,27	82,93	10,2	1,60

3.2.4 Geschlechterspezifische Analyse basierend auf Fragenkatalog und angepasster AUDIT-C-Klassifikation

Bei den Frauen zeigten sich signifikante Unterschiede im Rauchverhalten innerhalb der negativen Gruppe. Frauen mit postoperativen Komplikationen wiesen im Vergleich zur entsprechenden Kontrollgruppe eine signifikant höhere Anzahl an Pack Years mit $p < 0,01$ auf (Abbildung 19).

Pack Years

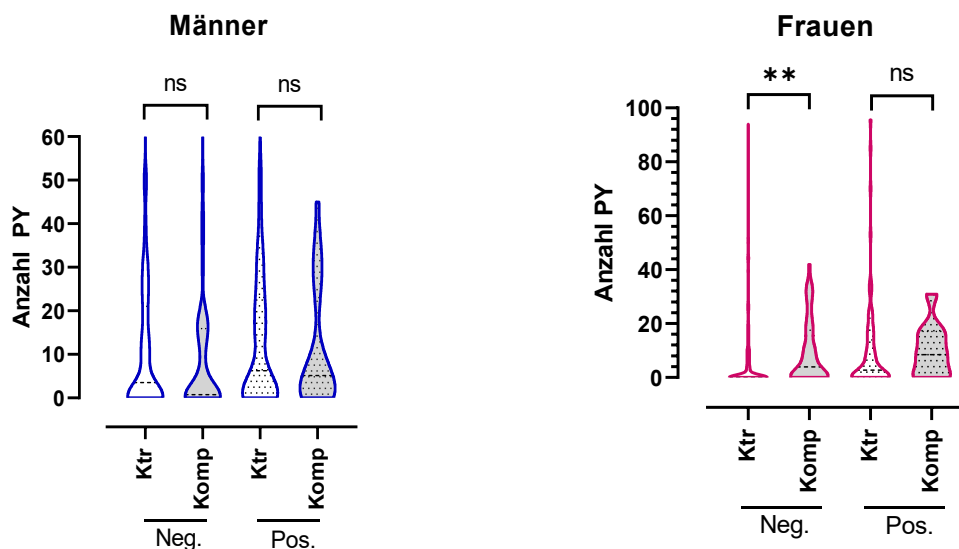


Abbildung 19: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Pack Years getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. Neg.: Ktr.: N= 155, Komp= 42; Pos.: Ktr.: 132, Komp: 26. Frauen Neg.: Ktr= 224, Komp= 46; Pos.: Ktr= 76, Komp= 10

Hinsichtlich des Alters ergaben sich signifikante Unterschiede ausschließlich bei den Frauen in der negativen Gruppe: Frauen mit postoperativen Komplikationen waren im Vergleich zur entsprechenden Kontrollgruppe signifikant älter ($p < 0,01$) (Abbildung 20).

Alter

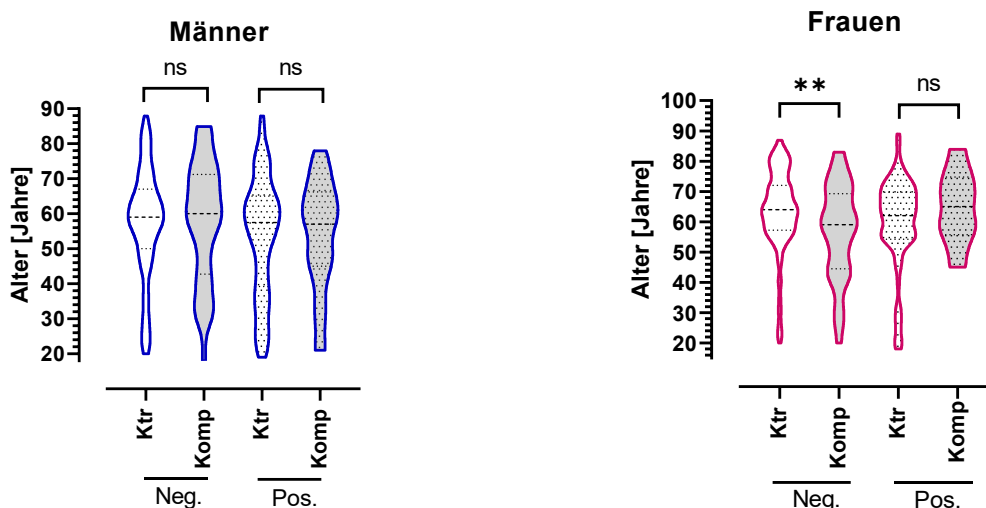


Abbildung 20: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - Alter getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. Neg.: Ktr.: N= 155, Komp= 42; Pos.: Ktr: 132, Komp: 26. Frauen Neg.: Ktr= 224, Komp= 46; Pos.: Ktr= 76, Komp= 10

Die Analyse zeigt, dass Pack Years und Alter insbesondere innerhalb der negativen Frauengruppe signifikant mit der Entwicklung postoperativer Komplikationen assoziiert sind. Im Gegensatz dazu waren diese Variablen bei Männern sowie innerhalb der positiven Frauengruppe nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen. Diese Ergebnisse deuten auf geschlechtsspezifische Risikofaktoren hin, die in der präoperativen Risikobewertung berücksichtigt werden sollten.

Beim Vergleich des BMI zeigten sich signifikante Unterschiede bei den Männern der Komplikationsgruppe sowie bei den Frauen der Vergleichsgruppe. Männer in der Komplikationsgruppe wiesen signifikant höhere BMI-Werte auf ($p < 0,01$), ebenso wie Frauen in der Vergleichsgruppe, bei denen der Unterschied mit $p <$

0,05 ebenfalls signifikant war. In beiden Fällen lagen die BMI-Werte in der Komplikationsgruppe höher (Abbildung 21).

BMI

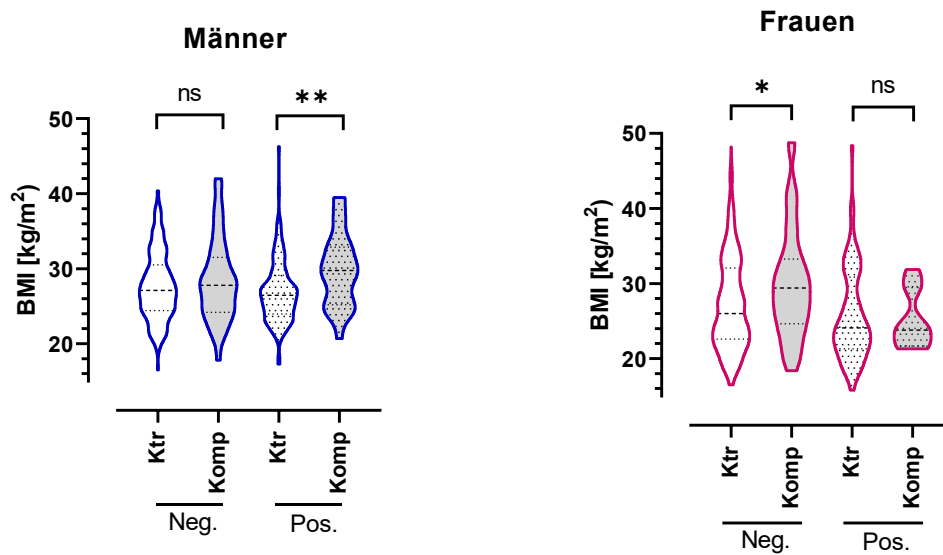


Abbildung 21: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - BMI getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. Neg.: Ktr.: N= 155, Komp= 42; Pos.: Ktr: 132, Komp: 26. Frauen Neg.: Ktr= 224, Komp= 46; Pos.: Ktr= 76, Komp= 10

Der FINDRISK-Score zeigte lediglich bei den männlichen Probanden mit Alkoholkonsumstörung (positive Gruppe) einen signifikanten Unterschied innerhalb der Komplikationsgruppe ($p < 0,05$). Bei den weiblichen Patienten hingegen zeigten sich weder in der negativen noch in der positiven Gruppe signifikante Unterschiede (Abbildung 22).

FINDRISK

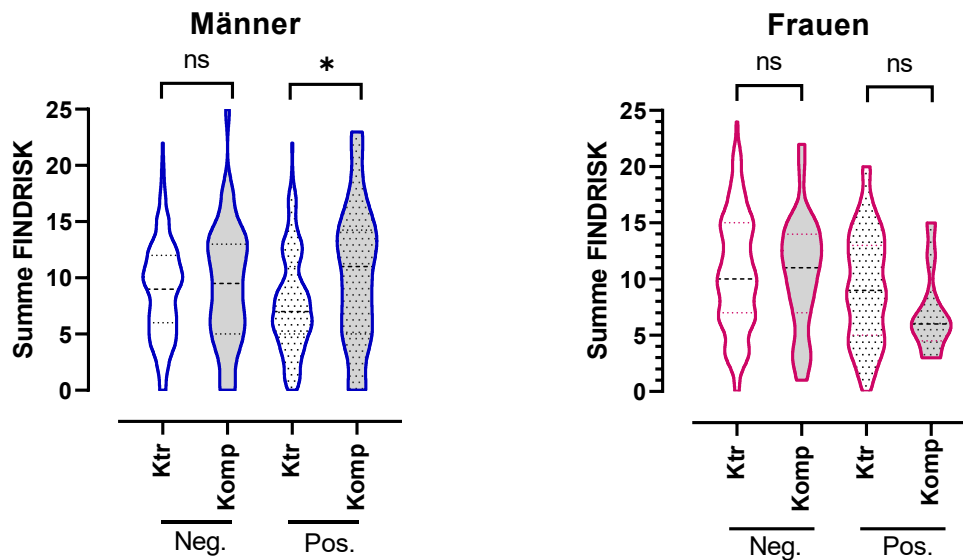


Abbildung 22: Analyse der Antworten aus dem Fragenkatalog - FINDRISK getrennt nach Geschlecht (blau = Männer, rot = Frauen), AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Männer. Neg.: Ktr.: N= 155, Komp= 42; Pos.: Ktr.: 132, Komp: 26. Frauen Neg.: Ktr= 224, Komp= 46; Pos.: Ktr= 76, Komp= 10

3.3 ELISA-Ergebnisse bei Männern und Frauen: Zusammengefasste Darstellung

Für Eotaxin-3 ergaben sich in der Gruppe mit geringem Alkoholkonsumrisiko keine statistisch signifikanten Unterschiede. Innerhalb der Gruppe mit riskantem Konsumverhalten zeigte sich jedoch ein Trend zur Signifikanz ($p = 0,0575$), wobei die Konzentrationen in der Komplikationsgruppe tendenziell über denen der entsprechenden Kontrollgruppe lagen (Abbildung 23).

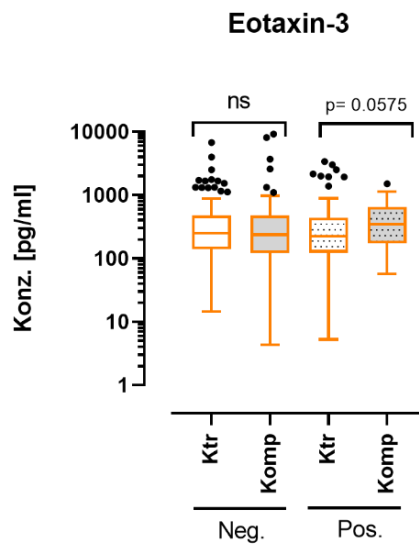


Abbildung 23: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für Eotaxin-3. getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Mann-Whitney Test: Neg.: Ktr: N= 98, Komp: N= 60; Pos.: Ktr: N= 125, Komp: N= 36

Bei TIMP-1 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen. Weder in der Gruppe mit geringem noch in der mit riskantem Alkoholkonsumrisiko bestanden relevante Differenzen zwischen Kontroll- und Komplikationsgruppe (Abbildung 24).

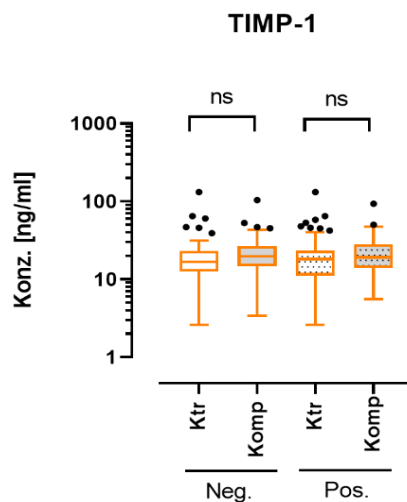


Abbildung 24: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für TIMP - 1. getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Mann-Whitney Test: Neg.: Ktr: N= 98, Komp: N= 60; Pos.: Ktr: N= 125, Komp: N= 36

Ebenfalls bei CD28 konnten keine signifikanten Abweichungen festgestellt werden. Die gemessenen Konzentrationen unterschieden sich in keiner der Gruppen signifikant zwischen Kontroll- und Komplikationssubgruppe (Abbildung 25).

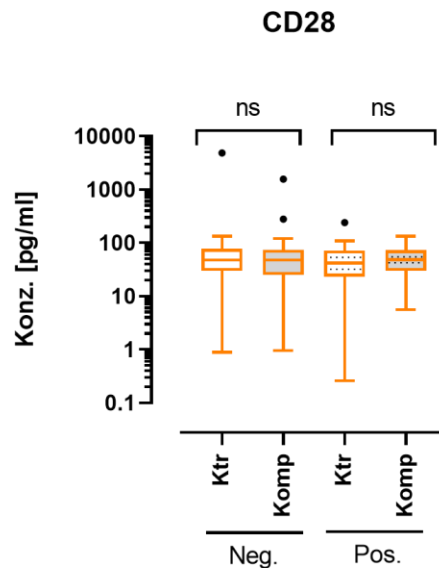


Abbildung 25: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für CD-28. getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Mann-Whitney Test: Neg.: Ktr: N= 98, Komp: N= 60; Pos.: Ktr: N= 125, Komp: N= 36

Für B7-1 zeigten sich innerhalb der Gruppe mit geringem Risiko keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontroll- und Komplikationsgruppe. In der Gruppe mit riskantem oder aktivem Alkoholkonsum wurde hingegen ein signifikanter Unterschied festgestellt ($p < 0,05$): Die Konzentrationen in der Komplikationsgruppe lagen signifikant über denen der entsprechenden Kontrollgruppe (Abbildung 26).

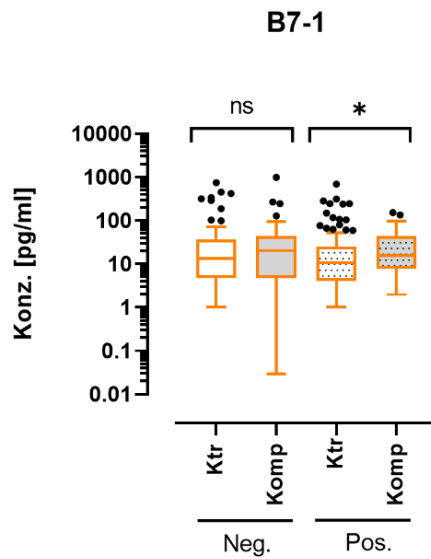


Abbildung 26: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für B7-1 getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Mann-Whitney Test: Neg.: Ktr: N= 98, Komp: N= 60; Pos.: Ktr: N= 125, Komp: N= 36

Ein vergleichbares Muster zeigte sich bei Interleukin-13 (IL-13). Auch hier waren in der Gruppe mit geringem Risiko keine signifikanten Unterschiede erkennbar. Innerhalb der Gruppe mit riskantem Konsumverhalten wurden jedoch signifikant erhöhte Konzentrationen in der Komplikationsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen ($p < 0,05$) (Abbildung 27).

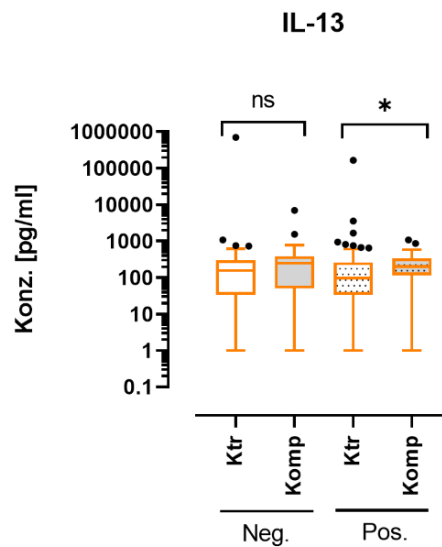


Abbildung 27: Boxplot der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen für IL-13 getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Mann-Whitney Test: Neg: Ktr: N= 98, Komp: N= 60; Pos.: Ktr: N= 125, Komp: N= 36

3.4 IL-13 und B7-1 bei Männern und Frauen

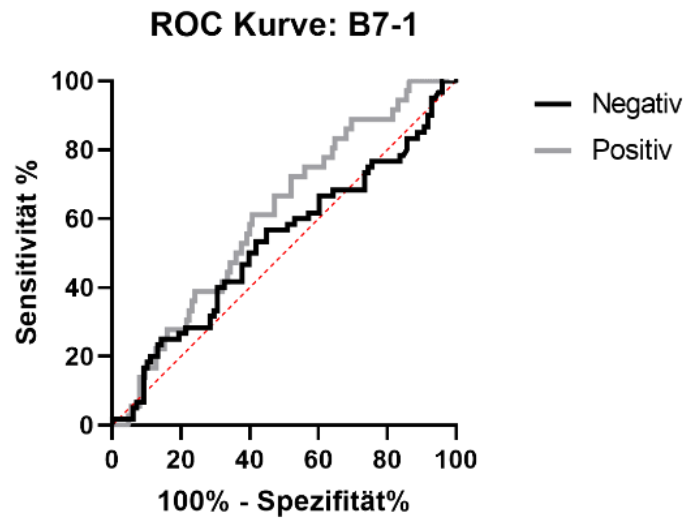
Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass B7-1 und IL-13 potenziell als biologische Risikomarker für alkoholassoziierte Komplikationen in Frage kommen. Ihre Eignung für diagnostische oder prognostische Anwendungen sollte in weiterführenden Studien validiert werden.

Die vorliegende ROC-Analyse untersucht die diagnostische Aussagekraft der Zytokine B7-1 und IL-13 in Bezug auf das Auftreten von Komplikationen.

Für B7-1 zeigte sich in der negativ definierten Gruppe eine AUC von 0,5282 (95 %-Konfidenzintervall: 0,4333–0,6232) mit einem p-Wert von 0,5520. Diese Werte deuten auf keine signifikante Differenzierungsfähigkeit in dieser Subgruppe hin. Im Gegensatz dazu ergab sich in der positiv definierten Gruppe ein auffälliger Befund mit einer AUC von 0,6098 (95 %-Konfidenzintervall: 0,5117–0,7078) und einem signifikanten p-Wert von 0,0450. Bei einer B7-1-Konzentration von >7,49 pg/ml betrug die Sensitivität 75,00 % und die Spezifität 38,40 %. Trotz der begrenzten Spezifität weist die hohe Sensitivität auf ein mögliches Potenzial von B7-1 als sensitiver Marker für Komplikationen bei Personen mit riskantem Alkoholkonsum hin (Abbildung 28 A und Tabelle 16 A).

Ein vergleichbares Muster zeigte sich auch für IL-13. In der negativen Gruppe erreichte IL-13 eine AUC von 0,5821 (95 %-Konfidenzintervall: 0,4886–0,6755) mit einem p-Wert von 0,0839 - ein Hinweis auf eine mögliche, aber statistisch nicht signifikante Trennschärfe. In der positiven Gruppe hingegen lag die AUC bei 0,6214 (95 %-Konfidenzintervall: 0,5170–0,7259) mit einem signifikanten p-Wert von 0,0266. Bei einer IL-13-Konzentration von >115,9 pg/ml konnte eine Sensitivität von 75,00 % und eine Spezifität von 54,40 % erreicht werden. IL-13 weist somit ebenfalls eine moderate, aber signifikante diagnostische Aussagekraft auf - mit etwas höherer Spezifität als B7-1 (Abbildung 28 B und Tabelle 16 B).

A)



B)

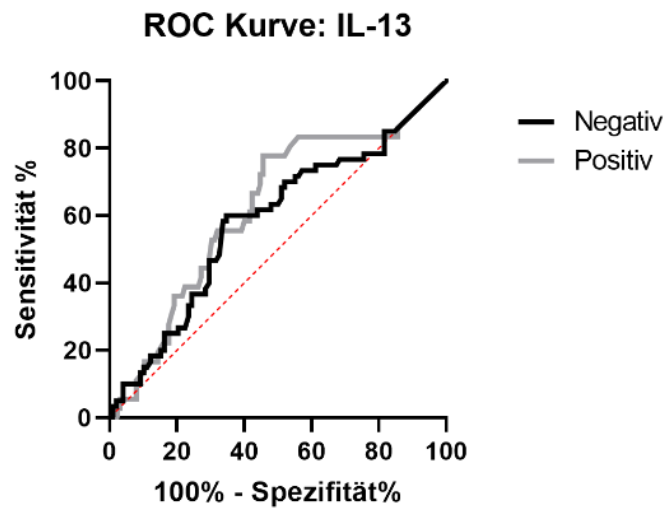


Abbildung 28: Roc Kurve: Zytokine A) B7-1 und B) IL-13 bei Männern und Frauen getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv). Gezeigt wird die Sensitivität (%) in Abhängigkeit von 100 % – Spezifität (%)

Tabelle 16: Tabellarische Darstellung der ROC-Kurven-Koordinaten bei A) B7-1 und B) IL-13 (vgl. Abbildung 29)

A)

B7-1	AUC (95% KI)	Cut - off [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	Youden - Index	Likelihood ratio
Negativ	0.53 (0.43 - 0.62)	> 31,21	38,33	69,39	7,72	1,25
Positiv	0.61 (0.51– 0.70)	> 7,49	75,00	38,40	13,4	1,22

B)

IL-13	AUC (95% KI)	Cut - off [pg/ml]	Sensitivität [%]	Spezifität [%]	Youden - Index	Likelihood ratio
Negativ	0.58 (0.49 - 0.68)	> 229,6	58,33	65,31	23,64	1,68
Positiv	0.62 (0.52– 0.73)	> 115,9	75,00	54,40	29,4	1,65

Zusammenfassend, deuten die Ergebnisse darauf hin, dass sowohl B7-1 als auch IL-13 insbesondere in der Gruppe mit erhöhtem Alkoholkonsum als potenzielle prädiktive Biomarker für das Risiko von Komplikationen in Betracht gezogen werden können. Beide Marker zeigten in dieser Subgruppe eine signifikante Trennschärfe, wobei die hohe Sensitivität auf eine mögliche Relevanz für die frühzeitige Identifikation gefährdeter Patienten hinweist.

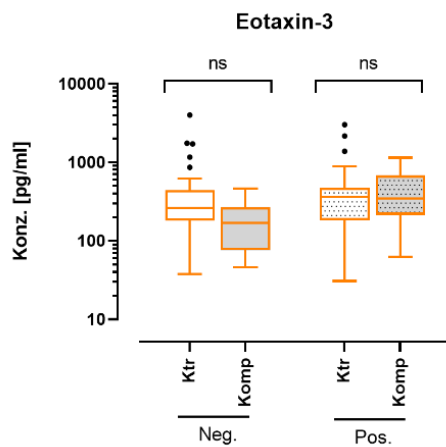
3.5 Erweiterte ELISA-Auswertung zur Risikoabschätzung präoperativ

Zur vertieften Analyse potenzieller präoperativer Risikofaktoren für postoperative Komplikationen bei alkoholabhängigen Patienten wurden weiterführende ELISA-Daten ausgewertet, um mögliche prädiktive Biomarker zu identifizieren. Untersucht wurden die Konzentrationen der Zytokine CD28, B7-1, Eotaxin-3, TIMP-1 und IL-13. Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests. Für B7-1, Eotaxin-3 und IL-13 ergaben sich keine signifikanten

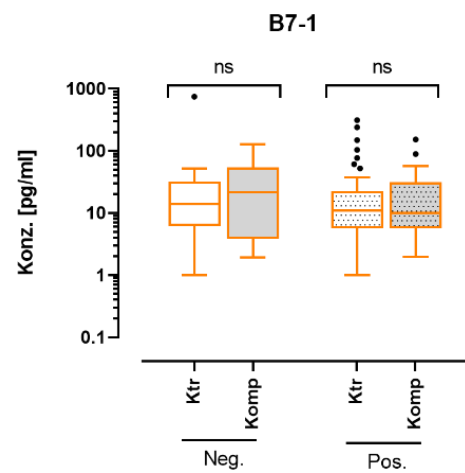
Unterschiede zwischen den Gruppen. In der alkoholnegativen Gruppe zeigten sich signifikante Unterschiede ausschließlich bei CD28 und TIMP-1. Während CD28 in der alkoholnegativen Gruppe tendenziell erniedrigt war (vgl. Abbildung 29 E), lagen die TIMP-1-Konzentrationen bei Patienten mit Komplikationen signifikant höher (Abbildung 29 D).

Die entsprechenden Ergebnisse sind in Abbildung 29 A-E dargestellt. Die Boxplots visualisieren die Verteilungen der gemessenen Konzentrationen und dienen als anschauliche Grundlage für die Interpretation der Daten.

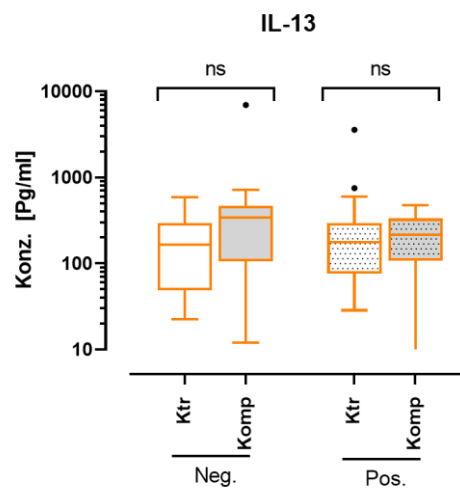
A)



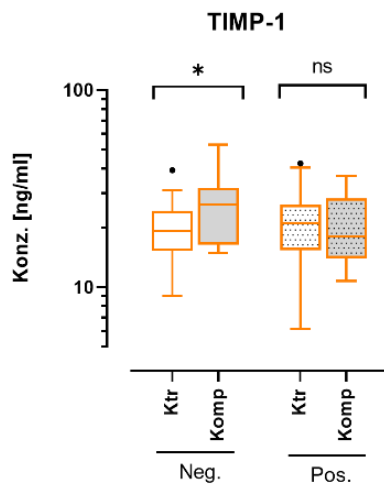
B)



C)



D)



E)

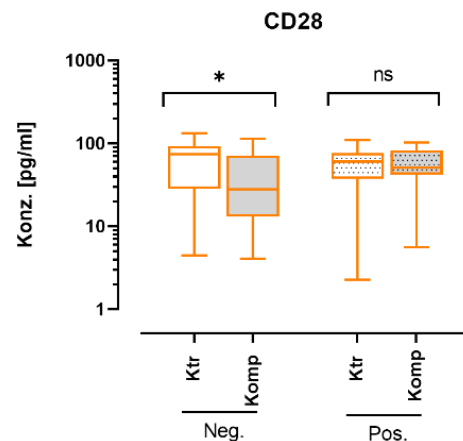


Abbildung 29: Boxplots der ELISA zur Darstellung der Konzentrationen. A) Eotaxin-3. B) B7-1. C) IL-13. D) TIMP-1. E) CD-28. getrennt nach, AUDIT-C-Kategorie (Neg. = AUDIT-C negativ, Pos. = AUDIT-C positiv) und Gruppe (Ktr = Kontrollgruppe, Komp = Komplikationsgruppe). N = Probandenzahl je Gruppe. Mann-Whitney Test.; Neg: Ktr: N= 31, Komp: N= 17; Pos.: Ktr: N= 46, Komp: N= 16 (47).

4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit liefert neue Erkenntnisse zu Risikofaktoren bei Traumapatienten mit Alkoholabusus in der Unfallchirurgie. Insbesondere geschlechterspezifische Unterschiede traten sowohl in den Befragungsergebnissen als auch in den labordiagnostischen Analysen deutlich hervor. Im folgenden Abschnitt werden diese Ergebnisse im Kontext bestehender Literatur kritisch eingeordnet, interpretiert und hinsichtlich ihrer klinischen Relevanz bewertet.

Alkoholkonsum ist gesellschaftlich verbreitet, birgt jedoch erhebliche gesundheitliche Risiken (59). Der vermeintliche Genuss kann weitreichende negative Auswirkungen auf nahezu alle Organsysteme haben und stellt einen relevanten Risikofaktor für die Gesundheit dar (59). Bereits geringe Mengen Alkohol gelten als gesundheitlich riskant (60). Ein signifikanter Anteil der Bevölkerung konsumiert Alkohol in riskantem Ausmaß (61, 62). Die alkoholbedingte Mortalität ist erheblich (63, 64).

Im klinischen Alltag zeigt sich, dass ein erheblicher Anteil von Traumapatienten bei Aufnahme eine Alkoholvergiftung aufweist oder einen positiven Blutalkoholspiegel hat (65-67). Besonders relevant ist in diesem Zusammenhang der präoperative Alkoholkonsum, der laut einer systematischen Übersichtsarbeit und Metaanalyse von Eliasen *et al.* mit einem signifikant erhöhten Risiko für postoperative Komplikationen verbunden ist. Dazu zählen unter anderem Infektionen, Wundheilungsstörungen, pulmonale Komplikationen sowie einen verlängerten Krankenhausaufenthalt und häufigere Aufnahmen auf Intensivstationen (64). Alkohol beeinflusst zahlreiche Organsysteme negativ und stellt insgesamt einen bedeutenden Risikofaktor für das Auftreten postoperativer Komplikationen dar (62, 64, 68-76).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, prädiktive Marker zu identifizieren, die bereits bei Krankenhausaufnahme auf ein erhöhtes Risiko für postoperative Komplikationen bei alkoholabhängigen Patienten hinweisen.

4.1 Charakteristika der Patientengruppe

Während bisherige Ansätze zur Risikoabschätzung häufig auf anamnestische Angaben, etwa zum Konsum schädlicher Substanzen oder bestehenden Begleiterkrankungen basieren, bleiben biologische Marker in der klinischen Routinediagnostik bislang oft unberücksichtigt (64, 77). Im Zentrum dieser Arbeit stand daher die Analyse prä- sowie postoperativ entnommener Blutproben mit dem Fokus auf Zytokinprofilen, um mögliche Zusammenhänge zwischen entzündlichen Parametern und dem Auftreten postoperativer Komplikationen aufzudecken (78).

4.2 Einfluss der Traumaschwere und chirurgischer Eingriffe auf das Immunsystem

Ein schweres Trauma kann durch eine fehlgesteuerte Immunantwort zu Organversagen führen, wobei sowohl eine überschießende Entzündungsreaktion als auch eine nachfolgende Immunsuppression entscheidend zum Verlauf beitragen (79). Studien zeigen zudem, dass chirurgische Eingriffe - insbesondere bei größerem operativem Trauma - mit einer vorübergehenden, aber teils ausgeprägten Schwächung der zellulären

Immunabwehr einhergehen, was das Risiko für postoperative Infektionen und weitere Komplikationen erhöht (80). Es besteht weitgehender Konsens darüber, dass der Traumaschweregrad einen relevanten Einfluss auf die Immunreaktion ausübt (47, 81). Da in dieser Studie keine standardisierten Traumaschweregrade wie etwa der Injury Severity Score (ISS) vorlagen, erfolgte die Klassifikation der Verletzungen auf Grundlage der betroffenen anatomischen Regionen sowie der dokumentierten operativen Maßnahmen (47, 82). Neben dem Alkoholkonsum scheinen auch das Alter und insbesondere ein erhöhter BMI relevante Einflussfaktoren auf das Gesundheitsergebnis darzustellen, da laut Andruszkow *et al.* (2013) bei adipösen Patienten nach schwerem Trauma eine verstärkte und verlängerte Entzündungsreaktion beobachtet wurde, die mit einem erhöhten Risiko für Multiorganversagen assoziiert ist (83). Zusammenfassend, wird deutlich, dass der Vergleich relevanter Einflussfaktoren wie Alter, BMI und weiterer patientenbezogener Merkmale essenziell ist (84).

Die Analysen zeigten eine weitgehende Übereinstimmung der Verletzungsmuster und Operationsarten zwischen der Kontroll- und der Komplikationsgruppe sowie zwischen alkoholpositiven und alkoholnegativen Patienten, worauf in den folgenden Abschnitten näher eingegangen wird.

4.3 Geschlechtsspezifische Risikofaktoren und ihre klinische Relevanz im Kontext postoperativer Komplikationen

4.3.1 Pack Years, Alter, BMI, FINDRISK

Besonders in der Gruppe der Frauen mit einem AUDIT-C-Score < 3 zeigten sich signifikante Unterschiede: Patientinnen mit postoperativen Komplikationen wiesen sowohl hinsichtlich der kumulierten Nikotinexposition (Pack Years) als auch des Alters signifikant höhere Werte auf als die Patientinnen der jeweiligen Kontrollgruppe (jeweils $p < 0,01$). Zudem war auch der Body-Mass-Index (BMI) bei diesen Frauen signifikant mit dem Auftreten postoperativer Komplikationen assoziiert ($p < 0,05$). Ein vergleichbares Ergebnis wurde in einer Studie von Poelmeijer *et al.* (2018) beschrieben, in der deutlich wurde, dass stark übergewichtige Patienten ein erhöhtes Risiko für postoperative Komplikationen sowie eine verlängerte Krankenhausverweildauer aufwiesen (85). In der Studie

von Møller *et al.* (2003) zeigte sich, dass langjähriger Nikotinkonsum über 50 Packungsjahre häufig mit weiteren lebensstilbedingten Risikofaktoren einhergeht, insbesondere mit einem erhöhten Alkoholkonsum, der wiederum ebenfalls das Risiko postoperativer Komplikationen beeinflussen kann (86). Das zunehmende Lebensalter stellt einen relevanten Einflussfaktor auf die Wundheilung dar. Studien belegen, dass der Heilungsprozess bei älteren Menschen signifikant verlangsamt ist, auch wenn die Gewebequalität in der Regel erhalten bleibt (87, 88). Verantwortlich dafür sind altersbedingte Veränderungen wie eine abgeschwächte Entzündungsreaktion, eine reduzierte Funktion von Immunzellen sowie eine verlangsamte Geweberegeneration (88).

Bei den männlichen Patienten ergaben sich relevante Zusammenhänge bei einem AUDIT-C-Score von = 4: Hier war sowohl ein erhöhter BMI als auch ein höherer FINDRISK-Score signifikant mit der Komplikationsgruppe assoziiert (jeweils $p < 0,05$) (85, 89, 90). Diese Befunde legen nahe, dass das Risiko für postoperative Komplikationen geschlechtsspezifisch von unterschiedlichen Faktoren beeinflusst wird und dass insbesondere bei moderatem bis geringem Alkoholkonsum weitere klinische Parameter wie Alter, BMI und metabolisches Risiko in den Fokus der präoperativen Risikobewertung rücken sollten.

4.3.2 IL-13 als potenzieller Risikomarker für Komplikationen bei Frauen und Männern

In der vorliegenden Analyse zeigten sich bei beiden Geschlechtern signifikant erhöhte IL-13-Konzentrationen in den jeweiligen Komplikationsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei den Frauen war dieser Anstieg insbesondere in der Gruppe mit einem AUDIT-C-Wert < 3 nachweisbar; hier erreichte IL-13 bei einem Schwellenwert von $>146,1$ pg/ml eine Sensitivität von 74,07 % und eine Spezifität von 52,17 %. Ähnlich verhielt es sich bei den männlichen Patienten: In der Komplikationsgruppe mit einem AUDIT-C-Wert = 4 wurden ebenfalls signifikant erhöhte IL-13-Werte festgestellt. Der entsprechende Schwellenwert von $>138,9$ pg/ml ging mit einer Sensitivität von 78,57 % und einer Spezifität von 52,38 % einher.

Im Vergleich zu etablierten Biomarkern wie IL-6, das in zahlreichen Studien als prädiktiver Parameter für postoperative Komplikationen identifiziert wurde (91, 92), ist die Rolle von IL-13 bislang kaum untersucht. Die beobachteten Unterschiede in Abhängigkeit von Geschlecht und Alkoholkonsum legen nahe, dass IL-13 bei bestimmten Risikogruppen von besonderer Bedeutung sein könnte. Frühere Arbeiten zeigen, dass chronischer Alkoholkonsum die Immunantwort moduliert, insbesondere IL-6- und TNF- α -Spiegel beeinflusst (47); für IL-13 gibt es Hinweise auf veränderte Werte bei alkoholassoziierten Lebererkrankungen (93).

Ein übermäßiger Anstieg von IL-13 könnte auf eine atypische TH2-vermittelte Immunantwort hinweisen, die im Gegensatz zur klassischen TH1-dominierten IL-6/TNF-Antwort steht und potenziell den Heilungsverlauf beeinträchtigt (94).

Da IL-13 noch nicht als Marker für postoperative Komplikationen etabliert ist, sollten zukünftige Studien größere Patientenkollektive einbeziehen, verschiedene Messzeitpunkte (prä-, intra-, postoperativ) berücksichtigen und prüfen, ob IL-13 in Kombination mit etablierten Parametern (z. B. IL-6, CRP) die Vorhersage verbessert (91, 92). Subgruppenanalysen nach Geschlecht und Alkoholkonsum könnten helfen, die Relevanz in spezifischen Risikogruppen besser zu verstehen.

4.3.3 B7-1 als potenzieller Risikomarker für Komplikationen bei Männern

In der Komplikationsgruppe männlicher Patienten (AUDIT-C ≥ 5) fanden sich signifikant erhöhte B7-1-Konzentrationen im Serum im Vergleich zur Kontrollgruppe; bei einem Schwellenwert von $> 10,65$ pg/ml wurde eine Sensitivität von 81,82 % und eine Spezifität von 53,66 % erreicht.

Parallelen zu anderen Studien zeigen, dass B7-1 bei Traumapatienten ebenfalls eine vielversprechende prädiktive Rolle gespielt hat, z. B. in Kombination mit PIGF-1 nach Knochenbrüchen – dort erreichte B7-1 ebenfalls eine hohe Sensitivität bei Geschlechterunterschieden (95).

Diese Befunde unterstützen das Potenzial von B7-1 als ergänzender Biomarker zur frühzeitigen Identifikation von Risikopatienten bei Männern. Vorausgesetzt,

die Ergebnisse lassen sich in größeren Prospektivkohorten bestätigend validieren - idealerweise kombiniert mit etablierten Markern wie IL-6, CRP oder IL-13, um die prädiktive Genauigkeit zu steigern (47).

Sollten sich diese Befunde in größeren Kohorten bestätigen, könnte B7-1 als ergänzender Biomarker zur frühzeitigen Risikoabschätzung alkoholassoziierter Komplikationen eine klinisch relevante Rolle spielen. Künftige Studien sollten untersuchen, ob B7-1 in Kombination mit etablierten Markern wie IL-6, CRP oder IL-13 die prädiktive Aussagekraft verbessert und ob geschlechtsspezifische Unterschiede berücksichtigt werden sollten (47, 95).

4.4 Geschlechtsspezifische Risikofaktoren und ihre klinische Relevanz im Kontext postoperativer Komplikationen bei negativem und positivem Alkoholkonsum

4.4.1 Pack Years, Alter, BMI, FINDRISK

Gemäß der in Abschnitt 3.4 beschriebenen Einteilung konnte mithilfe der standardisierten Fragebögen ein Überblick über potenzielle Risikofaktoren für postoperative Komplikationen bei Patienten mit geringem bis keinem Risiko für Alkoholkonsumstörungen sowie bei Patienten mit riskantem oder aktivem Alkoholkonsum gewonnen werden.

Bei Frauen mit negativem Alkoholkonsum zeigten sich – im Einklang mit den Ergebnissen aus Abschnitt 3.1.1 – erneut signifikante Unterschiede zwischen Komplikations- und Kontrollgruppe: Patienten mit Komplikationen waren im Durchschnitt älter und wiesen eine höhere kumulierte Nikotinexposition (Pack Years) auf (jeweils $p < 0,01$) (86, 88). Zusätzlich war ein erhöhter BMI signifikant mit dem Auftreten postoperativer Komplikationen assoziiert ($p < 0,05$), ein Befund, der bereits in der ersten Auswertung der Fragebögen beobachtet wurde (85).

Auch bei Männern ergaben sich – ebenfalls entsprechend den Befunden aus Abschnitt 3.1.1 – relevante Zusammenhänge: Ein höherer BMI ($p < 0,01$) und ein erhöhter FINDRISK-Score ($p < 0,05$) waren signifikant mit dem Auftreten von Komplikationen assoziiert (89, 90).

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass postoperative Komplikationen durch verschiedene Einflussfaktoren mitbestimmt werden. Präoperative Risikoeinschätzungen sollten daher - insbesondere bei Patienten mit riskantem oder aktivem Alkoholkonsum - zusätzliche Parameter wie BMI, Alter und metabolisches Risiko stärker berücksichtigen (85, 86, 88-90).

4.5 ELISA - Ergebnisse geschlechtsunabhängige Differenzierung

4.5.1 B7-1 und IL -13 als potenzielle Risikomarker bei Komplikationen?

Nach Zusammenführung der Daten von Männern und Frauen zeigten sich signifikant erhöhte Konzentrationen beider Marker in den Komplikationsgruppen. Für IL-13 ergab sich bei einem Schwellenwert von $> 7,49$ pg/ml eine Sensitivität von 75,00 % und eine Spezifität von 38,40 %. Für B7-1 lag der Schwellenwert bei $> 115,9$ pg/ml mit gleicher Sensitivität (75,00 %), jedoch höherer Spezifität (54,40 %).

Diese Ergebnisse zeigen, dass beide Marker auch unabhängig vom Geschlecht und Alkoholkonsum ein potenzielles Risiko für postoperative Komplikationen widerspiegeln. IL-13 ist ein zentraler Mediator der TH2-vermittelten Immunantwort und beeinflusst Wundheilungsprozesse sowie fibrotische Reaktionen (96). B7-1 wirkt als kostimulatorisches Molekül in der T-Zell-Aktivierung und ist an der Regulation von Immunantworten nach Trauma und Sepsis beteiligt (95). Die parallele Betrachtung beider Marker deutet darauf hin, dass sie unterschiedliche immunologische Signalwege abbilden und somit komplementäre Informationen zur Risikobewertung liefern könnten.

Im Gegensatz zu etablierten Parametern wie IL-6 oder CRP, die vor allem akute Entzündungsreaktionen widerspiegeln (97), könnten IL-13 und B7-1 Einblicke in spezifischere, adaptivere Immunmechanismen geben, die bislang in der Vorhersage postoperativer Komplikationen kaum berücksichtigt wurden. Damit unterscheidet sich diese kombinierte Betrachtung von den zuvor diskutierten Analysen, in denen Geschlecht, Alkoholkonsum oder klassische Risikofaktoren im Vordergrund standen.

4.5.2 Präoperatives Trauma: CD28 und TIMP -1 als prädiktive Marker?

Ein abweichendes Bild zeigte sich bei der Analyse der ausschließlich präoperativ entnommenen Blutproben, die entsprechend der Methodik in Hammour *et al.* (47) durchgeführt wurde. In dieser Auswertung waren die Spiegel von CD28 und Eotaxin-3 in der Komplikationsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe vermindert, während dieser Unterschied bei Patienten mit positivem Alkoholkonsum nicht nachweisbar war. Insgesamt blieben die Konzentrationen der untersuchten Marker CD28, B7-1, Eotaxin-3, TIMP-1 und IL-13 zwischen den Gruppen mit und ohne postoperative Komplikationen weitgehend stabil (Abbildung 26 A–E) (44). Dies könnte darauf hinweisen, dass chronischer Alkoholkonsum die präoperative Immunantwort beeinflusst.

Besonders CD28 und TIMP-1 erscheinen als potenziell prädiktive Marker. CD28 ist als Kostimulator in der T-Zell-Aktivierung ein zentraler Faktor für die adaptive Immunantwort (47, 98, 99). TIMP-1 reguliert die Aktivität von Matrixmetalloproteinasen und ist maßgeblich an Prozessen der Gewebeumbau- und Fibroseregulation beteiligt (98, 100). In einer Studie an Jugendlichen mit akuter Alkoholintoxikation wurden signifikant erhöhte TIMP-1-Spiegel ($p = 0,007$) und MMP-9-Spiegel ($p = 0,02$) nachgewiesen, was auf eine akute Beeinflussung fibrotischer Prozesse durch Alkohol hinweist (98). Weitere Arbeiten belegen, dass erhöhte TIMP-1-Konzentrationen mit einer ungünstigen Prognose in verschiedenen Krankheitsbildern wie chronischer Pankreatitis oder Lungentumoren assoziiert sind (100). Besonders auffällig ist, dass erhöhte TIMP-1 Spiegel mit einer ungünstigen Prognose korrelieren, unter anderem bei Lungentumoren, da TIMP-1 die Apoptose von Tumorzellen hemmt und somit zur Resistenz gegenüber Chemotherapien beitragen kann (101).

Wu *et al.* (2021) berichteten, dass chronischer Alkoholkonsum in einem Rattenmodell zu einer signifikanten Hochregulation von TIMP-1 im Nierengewebe führte, ein Effekt, der durch die Gabe von Dapagliflozin deutlich abgeschwächt werden konnte (102). Im Gegensatz dazu konnten Lebedev und Babenko (2021) in ihrer klinischen Studie an Patienten mit Typ-2-Diabetes keinen Einfluss einer sechsmonatigen Dapagliflozin-Behandlung auf die TIMP-1-

Konzentration nachweisen (103). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die Regulation von TIMP-1 kontextabhängig ist und zwischen Tiermodellen und klinischen Daten Unterschiede bestehen können.

5 Limitationen

Der Beginn der vorliegenden Untersuchung fiel in die Zeit der COVID-19-Pandemie, was insbesondere in der frühen Phase zu erheblichen Schwierigkeiten bei der Rekrutierung und Aufnahme geeigneter Patienten führte. Es zeigte sich, dass Personen mit erhöhtem Alkoholkonsum seltener aufgrund geplanter elektiver Eingriffe, sondern häufiger im Zusammenhang mit akuten traumatischen oder infektiösen Ereignissen hospitalisiert wurden. Infolgedessen war bei vielen Patienten eine sofortige operative Versorgung notwendig, wodurch eine strukturierte präoperative Erhebung von Daten oder Blutproben oftmals nicht mehr möglich war. Hinzu kam, dass zum Zeitpunkt der Aufnahme häufig unklar war, ob es sich um eine erstmalige Behandlung oder um einen Revisionseingriff handelte, was die Einschätzung des klinischen Kontextes zusätzlich erschwerte.

Die vorliegende Studie konzentrierte sich ausschließlich auf kurzfristige postoperative Komplikationen. Potenzielle Langzeitfolgen eines chronischen Alkoholkonsums auf den Heilungsverlauf und die Immunantwort konnten im Rahmen der dreimonatigen Nachbeobachtungszeit nicht umfassend erfasst werden. Um ein differenzierteres Bild der Auswirkungen alkoholassoziierter Risikofaktoren zu erhalten, wäre eine längere Beobachtungsdauer wünschenswert. Auch gesundheitsökonomische Analysen lassen sich innerhalb eines solch begrenzten Zeitraums nur eingeschränkt durchführen, sodass weiterführende Studien mit längerer Laufzeit sinnvoll erscheinen.

Ein methodisches Problem bestand zudem darin, dass Blutentnahmen nicht durchgehend präoperativ erfolgten. Aus organisatorischen Gründen konnten die Proben nicht einheitlich vor dem Eingriff entnommen werden, sodass sowohl prä- als auch postoperative Blutproben in die Auswertung gingen. Für künftige Untersuchungen ist eine standardisierte, frühzeitige Blutentnahme - idealerweise

bereits bei stationärer Aufnahme im Rahmen der Eingangsuntersuchung - zu empfehlen, um ein vergleichbares und repräsentatives Zytokinprofil zu erhalten.

Ein weiterer limitierender Faktor bestand in der eingeschränkten Auswahl an analysierten Zytokinen. Zwar wurden gezielt jene Marker untersucht, die in einem vorausgegangenen Screening-Verfahren als relevant identifiziert und anschließend mittels ELISA quantifiziert wurden, jedoch blieb eine umfassende Betrachtung des gesamten Zytokinprofils aus. Da die Expression einzelner Zytokine durch eine Vielzahl externer und individueller Faktoren beeinflusst werden kann, wäre zur genauen immunologischen Charakterisierung von Patienten mit Alkoholkonsum eine breit angelegte Analyse mit mehr Patienten erforderlich.

6 Klinischer Ausblick

Die vorliegenden Ergebnisse weisen auf das Potenzial hin, bestimmte Zytokine wie CD28, TIMP-1, Eotaxin-3, IL-13 und B7-1 präoperativ als Biomarker zur Identifikation von Risikopatienten heranzuziehen. Eine gezielte Bestimmung solcher immunologischer Parameter könnte zukünftig eine frühzeitige Risikoeinschätzung und gegebenenfalls präventive Interventionen ermöglichen, um postoperative Komplikationen zu reduzieren. Gleichzeitig stellt sich die Frage nach der klinischen Umsetzbarkeit eines solchen Ansatzes: Der zusätzliche zeitliche und finanzielle Aufwand sowie die akute Operationsplanung in der Traumatologie begrenzen die praktische Anwendung einer umfassenden Zytokinprofilanalyse im klinischen Alltag erheblich.

Auch wenn einzelne Parameter wie BMI, Alter, FINDRISK-Score oder Nikotinexposition vor dem Eingriff bekannt sind, lassen sie sich präoperativ kaum therapeutisch beeinflussen. Eine effektive Risikoreduktion hängt daher maßgeblich von einer patientenorientierten Aufklärung und der Bereitschaft zur Verhaltensänderung ab, insbesondere bei Faktoren wie Alkoholkonsum.

Zudem zeigt sich, dass Zytokine im Blut äußerst sensitiv auf externe Einflüsse wie Alkohol reagieren, was die Interpretation der Messergebnisse erschwert. In

unserer Studie konnte trotz der Analyse mehrerer Zytokine kein verlässlicher Marker bei Konsum von Alkohol identifiziert werden, der sich als prädiktiv für postoperative Komplikationen eignet. Diese Beobachtung unterstreicht die Komplexität immunologischer Prozesse und verdeutlicht, dass einzelne Biomarker selten isoliert interpretierbar sind.

Darüber hinaus bleibt zu bedenken, dass unsere Auswertung auf kurzfristige postoperative Verläufe beschränkt war. Mögliche Langzeiteffekte, insbesondere im Zusammenhang mit chronischem Alkoholkonsum, konnten nicht erfasst werden. Eine erweiterte Analyse mit einem breiter gefassten Zytokinprofil sowie einer größeren und langfristig begleiteten Patientenkohorte wäre daher sinnvoll, um differenziertere Aussagen zur prädiktiven Aussagekraft einzelner Marker treffen zu können.

Insgesamt zeigt sich, dass die Integration immunologischer Marker in die präoperative Risikoeinschätzung vielversprechend ist, jedoch weitere wissenschaftliche Validierung und eine realistische klinische Umsetzung erfordert.

7 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit widmet sich der Untersuchung des Einflusses von Alkoholkonsum auf postoperative Komplikationen bei traumachirurgischen Patienten. Ziel war es, durch die Analyse klinischer Risikofaktoren sowie immunologischer Biomarker einen Beitrag zur frühzeitigen Identifikation gefährdeter Patientengruppen zu leisten.

Im Fokus stand die Frage, inwiefern spezifische Zytokine als prädiktive Marker dienen können, um postoperative Komplikationen bei Patienten mit alkoholassozierten Risikoprofilen zuverlässig vorherzusagen. Hierzu wurden sowohl standardisierte anamnestische Daten (z. B. BMI, Alter, Nikotinexposition, FINDRISK-Score, AUDIT-C) als auch labordiagnostische Parameter erhoben (35, 37, 104, 105). Insbesondere zeigte sich, dass geschlechtsspezifische Unterschiede in der Risikoverteilung bestehen: Bei Frauen waren höhere Werte

für Alter, Pack Years und BMI signifikant mit Komplikationen assoziiert, während bei Männern erhöhte FINDRISK-Scores und BMI-Werte als relevante Einflussfaktoren identifiziert wurden (85, 86, 88)

Die immunologische Analyse von Blutproben mittels ELISA ergab, dass die Zytokine IL-13 und B7-1 in Patientengruppen mit postoperativen Komplikationen signifikant erhöht waren. Dies weist auf eine potenzielle Beteiligung einer Th2-dominierten Immunantwort bei der Entstehung entzündlicher und fibrotischer Prozesse hin (106-110). Zusätzlich zeigten sich in präoperativ entnommenen Proben insbesondere CD28 und TIMP-1 als mögliche prädiktive Marker (47). Diese Befunde legen nahe, dass auch vor der Operation messbare immunologische Veränderungen bestehen können, die mit einem erhöhten Risiko für Komplikationen einhergehen.

Ein zentrales Ergebnis dieser Arbeit ist die Erkenntnis, dass Alkoholkonsum nicht nur über klassische Risikofaktoren wie Leberfunktionsstörungen und Knochenschwächung die Heilung beeinflusst (73-75), sondern auch immunologische Signalwege moduliert, die wiederum das Risiko für Wundheilungsstörungen und systemische Komplikationen erhöhen können (2, 111). TIMP-1 und IL-13 wurden hierbei als mögliche Bindeglieder zwischen Alkoholwirkung, Immunantwort und fibrotischen Folgeprozessen identifiziert (101, 102, 107-110, 112). Während Wu *et al.* (2021) eine alkoholinduzierte Hochregulation von TIMP-1 nachweisen konnten, die durch Dapagliflozin abgeschwächt wurde (102), zeigte sich in der klinischen Studie von Lebedev und Babenko (2021) kein Effekt auf TIMP-1 unter Dapagliflozin, was die Übertragbarkeit tierexperimenteller Ergebnisse auf den Menschen relativiert (103).

Gleichzeitig zeigt sich, dass kein einzelner Marker in der Lage ist, das Risiko vollständig zu erfassen. Vielmehr scheint eine Kombination aus anamnestischen und immunologischen Parametern notwendig, um eine zuverlässige Risikoeinschätzung zu ermöglichen (47, 113). Die Studie belegt das Potenzial einer zytokinbasierten Risikostratifizierung in der Traumatologie, macht aber

zugleich auf methodische Herausforderungen aufmerksam. Die Umsetzung im klinischen Alltag wird derzeit durch logistische Hürden, unzureichende Standardisierung der Probenentnahme und begrenzte Ressourcen erschwert (47). Langfristig könnten solche Marker jedoch helfen, individualisierte Therapiekonzepte zu entwickeln, um postoperative Komplikationen bei Risikopatienten gezielter zu vermeiden.

8 Anhang

8.1 Belegungspläne der Zytokin Arrays

Human Cytokine Array C5

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	POS	POS	POS	POS	NEG	NEG	ENA-78 (CXCL5)	G-CSF	GM-CSF	GRO a/b/g	GRO alpha (CXCL1)
2	I-309 (CCL1)	IL-1 alpha (IL-1 F1)	IL-1 beta (IL-1 F2)	IL-2	IL-3	IL-4	IL-5	IL-6	IL-7	IL-8 (CXCL8)	IL-10
3	IL-12 p40/p70	IL-13	IL-15	IFN-gamma	MCP-1 (CCL2)	MCP-2 (CCL8)	MCP-3 (CCL7)	M-CSF	MDC (CCL22)	MIG (CXCL9)	MIP-1 beta (CCL4)
4	MIP-1 delta	RANTES (CCL5)	SCF	SDF-1 alpha	TARC (CCL17)	TGF beta 1	TNF alpha	TNF beta (TNFSF1B)	EGF	IGF-1	Angiogenin
5	OSM	TPO	VEGF-A	PDGF-BB	Leptin	BDNF	BLC (CXCL13)	Ck beta 8-1 (CCL23)	Eotaxin-1 (CCL11)	Eotaxin-2 (CCL24)	Eotaxin-3 (CCL26)
6	FGF-4	FGF-6	FGF-7 (KGF)	FGF-9	FLT-3 Ligand	Fractalkine (CX3CL1)	GCP-2 (CXCL6)	GDNF	HGF	IGFBP-1	IGFBP-2
7	IGFBP-3	IGFBP-4	IL-16	IP-10 (CXCL10)	LIF	LIGHT (TNFSF14)	MCP-4 (CCL13)	MIF	MIP-3 alpha	NAP-2 (CXCL7)	NT-3
8	NT-4	OPN (SPP1)	OPG (TNFRSF11)	PARC	PLGF	TGF beta 2	TGF beta 3	TIMP-1	TIMP-2	POS	POS

Human Immune Checkpoint Array C1

Each antibody is spotted in duplicate		A	B	C	D	E	F	G	H
	1	POS	POS	NEG	NEG	4-1BB (CD137)	B7-1/CD80	B7-2/CD86	B7-H2/ICOSL
	2								
	3	B7-H3	B7-H4	CD200	CD200R	CD27	CD270/HVEM	CD27L/CD70	CD28
	4								
	5	CD40L	CTLA4	ICOS	LAG3	OX40	OX40L/CD252	PD-1/CD279	PDL1/B7-H1
	6								
	7	PD-L2	TIM1	TIM3	BLANK	BLANK	BLANK	BLANK	POS
8									

9 Antrag auf Nutzung externer Abbildungen

Abbildung	Quellenangabe in Dissertation	Schriftverkehr mit Genehmigung von
<p>Abbildung 3: Ablauf der Microarrays nach dem RayBio® Protokoll. Überarbeitet mit BioRender® (52, 53)</p>	<p>43. R.RayBio® I. C- Series Human Cytokine Antibody Array C1: RayBiotech 2007- 2025; 06.12.2019 [Available from: <a href="https://docs.raybiotech.com/files/manuals/AAH-
ICM-1.pdf">https://docs.raybiotech.com/files/manuals/AAH- ICM-1.pdf.</p> <p>44. RayBio® IR. C-Series Human Cytokine Antibody Array C5: RayBiotech 2007-2025; 06.12.2019 [Available from: <a href="https://docs.raybiotech.com/files/manuals/AAH-
CYT-5.pdf">https://docs.raybiotech.com/files/manuals/AAH- CYT-5.pdf.</p>	<p>Am 12.06.2025, 16:09 Uhr via E-Mail i.A. Daniel Niedzwiecki, International Distributor Coordinator. Sales, Marketing & Senior Technical Support Specialist RayBiotech®</p>

10 Literaturverzeichnis

1. Ilhan MN, Yapar D. Alcohol consumption and alcohol policy. *Turk J Med Sci.* 2020;50(5):1197-202.
2. Crews FT, Bechara R, Brown LA, Guidot DM, Mandrekar P, Oak S, et al. Cytokines and alcohol. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006;30(4):720-30.
3. Schuckit MA. Alcohol-use disorders. *Lancet.* 2009;373(9662):492-501.
4. Park SH, Kim DJ. Global and regional impacts of alcohol use on public health: Emphasis on alcohol policies. *Clin Mol Hepatol.* 2020;26(4):652-61.
5. Roerecke M. Alcohol's Impact on the Cardiovascular System. *Nutrients.* 2021;13(10).
6. Godos J, Giampieri F, Chisari E, Micek A, Paladino N, Forbes-Hernández TY, et al. Alcohol Consumption, Bone Mineral Density, and Risk of Osteoporotic Fractures: A Dose-Response Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(3).
7. Wilms N, Seitz NN, Schwarzkopf L, Olderbak S, Kraus L. Alcoholic Beverage Preference in Germany: An Age-Period-Cohort Analysis of Trends 1995-2018. *Alcohol Alcohol.* 2023;58(4):426-35.
8. Lange C, Manz K, Rommel A, Schienkiewitz A, Mensink G. Alcohol consumption of adults in Germany. Harmful drinking quantities, consequences and measures. *Journal of Health Monitoring.* 2016;1:2-20.
9. Chikritzhs T, Livingston M. Alcohol and the Risk of Injury. *Nutrients.* 2021;13(8).
10. Szabo G. Consequences of alcohol consumption on host defence. *Alcohol Alcohol.* 1999;34(6):830-41.
11. Avishai E, Yeghiazaryan K, Golubnitschaja O. Impaired wound healing: facts and hypotheses for multi-professional considerations in predictive, preventive and personalised medicine. *Epma j.* 2017;8(1):23-33.
12. Lampert C, Bösch F, Werner J, Angele MK, Pratschke S. Komorbiditäten gefährden die Wundheilung. *MMW - Fortschritte der Medizin.* 2019;161(20):54-9.
13. Riuttanen A, Jäntti SJ, Mattila VM. Alcohol use in severely injured trauma patients. *Scientific Reports.* 2020;10(1):17891.
14. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37(5):1528-42.
15. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *J Chin Med Assoc.* 2018;81(2):94-101.
16. Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur Surg Res.* 2017;58(1-2):81-94.
17. Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. *Adv Sci (Weinh).* 2021;8(15):e2004433.
18. Wang X, Balaji S, Steen E, Li H, Rae M, Blum A, et al. T Lymphocytes Attenuate Dermal Scarring by Regulating Inflammation, Neovascularization, and Extracellular Matrix Remodeling. *Advances in Wound Care.* 2019;8.
19. Radek KA, Ranzer MJ, DiPietro LA. Brewing complications: the effect of acute ethanol exposure on wound healing. *J Leukoc Biol.* 2009;86(5):1125-34.

20. Pasala S, Barr T, Messaoudi I. Impact of Alcohol Abuse on the Adaptive Immune System. *Alcohol Res.* 2015;37(2):185-97.
21. Parlesak A. Alkohol und Immunsystem *Schweizer Zeitschrift für Ernährungsmedizin* 01/20091. Januar 2009 [Alkohol, Immunsystem]. [Access Date: 08.04.2025, 12:33. Available from: <https://www.rosenfluh.ch/ernaehrungsmedizin-2009-01/alkohol-und-immunsystem>].
22. Zierle-Ghosh A, Jan A. *Physiology, Body Mass Index.* StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC.; 2025.

23. Whiting PS, White-Dzuro GA, Avilucea FR, Dodd AC, Lakomkin N, Obremsky WT, et al. Body mass index predicts perioperative complications following orthopaedic trauma surgery: an ACS-NSQIP analysis. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2017;43(2):255-64.
24. Makrantonaki E, Wlaschek M, Scharffetter-Kochanek K. Pathogenese von Wundheilungsstörungen bei älteren Patienten. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2017;15(3):255-78.
25. Dissemmond J. [Diagnostics and treatment of local wound infections]. *Z Gerontol Geriatr.* 2023;56(1):48-52.
26. Zhu J, Si M, Huang Z. Effect of tobacco usage on surgical site wound problems after primary total hip and total knee arthroplasty: A meta-analysis. *International Wound Journal.* 2024;21(1):e14375.
27. Postler A, Lützner C, Müller M. [Perioperative management with consumption of alcohol and nicotine in patients with hip and knee arthroplasty]. *Orthopadie (Heidelb).* 2024.
28. Silverstein P. Smoking and wound healing. *Am J Med.* 1992;93(1a):22s-4s.
29. Schedlowski M, Schmidt RE. [Stress and the immune system]. *Naturwissenschaften.* 1996;83(5):214-20.
30. Dragoş D, Tănăsescu MD. The effect of stress on the defense systems. *J Med Life.* 2010;3(1):10-8.
31. McEwen BS, Stellar E. Stress and the Individual: Mechanisms Leading to Disease. *Archives of Internal Medicine.* 1993;153(18):2093-101.
32. Tekin HG, Eskandarani HA, Iversen L, Juel J. [Immunosuppressive therapy and post-operative wound healing]. *Ugeskr Laeger.* 2021;183(1).
33. Horn D, Klaas C, Raschke M, Stange R. [Immunosuppressive treatment and bone healing]. *Unfallchirurg.* 2019;122(7):518-25.
34. Obeid G, Zhang X, Wang X. Effect of ibuprofen on the healing and remodeling of bone and articular cartilage in the rabbit temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg.* 1992;50(8):843-9; discussion 9-50.
35. Organization WH. *AUDIT: The Alcohol Use Disorders Identification Test – Guidelines for Use in Primary Care.* 2nd Edition ed2001.
36. Bush K, Kivlahan DR, McDonnell MB, Fihn SD, Bradley KA. The AUDIT alcohol consumption questions (AUDIT-C): an effective brief screening test for problem drinking. *Ambulatory Care Quality Improvement Project (ACQUIP).* Alcohol Use Disorders Identification Test. *Arch Intern Med.* 1998;158(16):1789-95.

37. Frank D, DeBenedetti AF, Volk RJ, Williams EC, Kivlahan DR, Bradley KA. Effectiveness of the AUDIT-C as a screening test for alcohol misuse in three race/ethnic groups. *J Gen Intern Med.* 2008;23(6):781-7.
38. Reinert DF, Allen JP. The alcohol use disorders identification test: an update of research findings. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(2):185-99.
39. Bradley KA, DeBenedetti AF, Volk RJ, Williams EC, Frank D, Kivlahan DR. AUDIT-C as a brief screen for alcohol misuse in primary care. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(7):1208-17.
40. RAYLYTIC GmbH. AIQNET [Access Date: 30.07.2025, 10:21. [Available from: <https://aiqnet.eu/>.
41. E-HEALTH-COM. BioRegio: AIQNET - Pioniere im modernen Gesundheitswesen - BG Klinik Tübingen nutzt KI zur Identifikation von Risikopatienten HEALTH-CARE-COM GmbH; 2020 [updated 03.12.2020. Access Date: 18.01.2024, 12:48. Available from: <https://e-health-com.de/details-unternehmensnews/bioregio-stern-aiqnet-pioniere-im-modernen-gesundheitswesen/>.
42. Klimaschutz BfWu. AIQNET - Medical Data Ecosystem [Access Date: 02.08.2025, 12:47. [Available from: https://www.digitale-technologien.de/DT/Redaktion/DE/Standardartikel/KuenstlicheIntelligenzProjekt/e/KuenstlicheIntelligenz_ErsterFoerderungsauftrag/ki-projekt_AIQNET.html.
43. Clavien PA, Sanabria JR, Strasberg SM. Proposed classification of complications of surgery with examples of utility in cholecystectomy. *Surgery.* 1992;111(5):518-26.
44. Clavien PA, Barkun J, de Oliveira ML, Vauthey JN, Dindo D, Schulick RD, et al. The Clavien-Dindo classification of surgical complications: five-year experience. *Ann Surg.* 2009;250(2):187-96.
45. Bumm R. Komplikationsklassifikation: Klinikmanual Chirurgie 2016 [updated 04.08.2016 09:09:05. Access Date: 09.06.2025; 09:27. Available from: <http://www.klinikmanual.de/page.php?id=164&category=memo>
46. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg.* 2004;240(2):205-13.
47. Hammour MM, Anuk Y, Breinbauer R, Aspera-Werz RH, Xin Y, Chen G, et al. Impact of alcohol consumption on outcomes and potential of immune biomarkers for postoperative complications in trauma patients. *Front Immunol.* 2025;16:1492288.
48. Gesundheit&Pflege. AUDIT-C Test 2025. Kurzfragebogen [Access Date: 02.08.2025, 16:07. [Available from: <https://www.alter-sucht-pflege.de/audit-c-fragebogen/>.
49. Bogner V, Mutschler W. [Microarrays as biomarkers in trauma]. *Unfallchirurg.* 2014;117(8):686-92.
50. Marcotte ER, Srivastava LK, Quirion R. cDNA microarray and proteomic approaches in the study of brain diseases: focus on schizophrenia and Alzheimer's disease. *Pharmacol Ther.* 2003;100(1):63-74.
51. Ogasawara T, Kuwabara R, Kozai K, Kato K. Quantitative Cell Subset Analysis Using Antibody Microarrays. *ACS Appl Bio Mater.* 2021;4(10):7673-81.

52. R.RayBio® I. C- Series Human Cytokine Antibody Array C1: RayBiotech 2007-2025; 06.12.2019 [Access Date: 10.06.2025, 10:04. [Available from: <https://docs.raybiotech.com/files/manuals/AAH-ICM-1.pdf>.
53. RayBio® IR. C-Series Human Cytokine Antibody Array C5: RayBiotech 2007-2025; 06.12.2019 [Access Date: 10.06.2025, 22:48. [Available from: <https://docs.raybiotech.com/files/manuals/AAH-CYT-5.pdf>.
54. GUIDE Sb-tE. ELISA GUIDE- A clear and easy guide to ELISAs [Access Date: 11.06.2025, 10:01. [Available from: https://resources.rndsystems.com/pdfs/brochures/rndsystems_br_elisa_guide_a_sdfy20-10071.pdf.
55. Tabatabaei MS, Ahmed M. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Methods Mol Biol.* 2022;2508:115-34.
56. Baker HN, Murphy R, Lopez E, Garcia C. Conversion of a capture ELISA to a Luminex xMAP assay using a multiplex antibody screening method. *J Vis Exp.* 2012(65).
57. Levola J, Aalto M. Screening for At-Risk Drinking in a Population Reporting Symptoms of Depression: A Validation of the AUDIT, AUDIT-C, and AUDIT-3. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 2015;39(7):1186-92.
58. Bradley KA BK, Epler AJ, et al (2003). Two brief alcohol-screening tests From the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): Validation in a female Veterans Affairs patient population. *Arch Intern Med.* 163:821-9. Bush K, Kivlahan DR, McDonnell MB, et al (1998). The AUDIT alcohol consumption questions (AUDIT-C): an effective brief screening test for problem drinking. Ambulatory Care Quality Improvement Project (ACQUIP). *Arch Intern Med.* 158:1789-95. Two brief alcohol-screening tests From the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): Validation in a female Veterans Affairs patient population.; The AUDIT alcohol consumption questions (AUDIT-C): an effective brief screening test for problem drinking. Ambulatory Care Quality Improvement Project (ACQUIP). 2003, 1998 [Access Date: 02.04.2025, 11:22. [Available from: <https://cde.nida.nih.gov/instrument/f229c68a-67ce-9a58-e040-bb89ad432be4>.
59. Burger M, Mensink G. Bundes-Gesundheitssurvey: Alkohol. 2003.
60. Lange C, Manz K, Kuntz B. Alkoholkonsum bei Erwachsenen in Deutschland: Riskante Trinkmengen. Robert Koch-Institut, Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung; 2017.
61. Gesundheit Bf. Alkohol – Informationen des Bundesministeriums für Gesundheit Berlin: Bundesministerium für Gesundheit; 06.05.2025 [Access Date: 31.05.2025, 17:36. [Available from: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/a/alkohol.html>.
62. Egholm JW, Pedersen B, Møller AM, Adami J, Juhl CB, Tønnesen H. Perioperative alcohol cessation intervention for postoperative complications. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;11(11):Cd008343.
63. Piontek D AJ, Kraus L (Hrsg.). Alkoholatlas Deutschland 2022. Berlin: Deutsche Hauptstelle für Suchtfragen e. V.; 2022.
64. Eliassen M, Grønkjær M, Skov-Ettrup LS, Mikkelsen SS, Becker U, Tolstrup JS, et al. Preoperative Alcohol Consumption and Postoperative

Complications: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Surgery*. 2013;258(6):930-42.

65. Weber CD, Schmitz JK, Garving C, Horst K, Pape HC, Hildebrand F, et al. The alcohol-intoxicated trauma patient: impact on imaging and radiation exposure. *Eur J Trauma Emerg Surg*. 2019;45(5):871-6.

66. Pina C, Marco CA. Intoxication and Glasgow coma scale scores in patients with head trauma. *Am J Emerg Med*. 2024;80:8-10.

67. Ng C, Fleury M, Hakmi H, Bronson B, Vosswinkel JA, Huang EC, et al. The impact of alcohol use and withdrawal on trauma outcomes: A case control study. *Am J Surg*. 2021;222(2):438-45.

68. Nissilä E, Suojaranta R, Hynninen M, Dahlbacka S, Hästbacka J. Hazardous alcohol consumption and perioperative complications in a cardiac surgery patient. A retrospective study. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 2024;68(3):337-44.

69. Neuenschwander AU, Pedersen JH, Krasnik M, Tønnesen H. Impaired postoperative outcome in chronic alcohol abusers after curative resection for lung cancer. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. 2002;22(2):287-91.

70. Sonne NM, and Tønnesen H. The influence of alcoholism on outcome after evacuation of subdural haematoma. *British Journal of Neurosurgery*. 1992;6(2):125-30.

71. Spies C, Tønnesen H, Andreasson S, Helander A, Conigrave K. Perioperative Morbidity and Mortality in Chronic Alcoholic Patients. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2001;25(s1):164S-70S.

72. Spies CD, Nordmann A, Brummer G, Marks C, Conrad C, Berger G, et al. Intensive care unit stay is prolonged in chronic alcoholic men following tumor resection of the upper digestive tract. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1996;40(6):649-56.

73. Vassallo GA, Dionisi T, Tarli C, Augello G, Mirijello A, De Cosmo S, et al. Alcohol-related Liver Disease and sepsis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021;25(13):4563-9.

74. Bandeira L, Silva BC, Bilezikian JP. Male osteoporosis. *Arch Endocrinol Metab*. 2022;66(5):739-47.

75. Eby JM, Sharieh F, Azevedo J, Callaci JJ. Episodic alcohol exposure attenuates mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation during bone fracture callus formation. *Alcohol Clin Exp Res*. 2022;46(6):915-27.

76. Xi Y, Huang H, Zhao Z, Ma J, Chen Y. Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 suppresses growth and differentiation of osteoblasts and differentiation of osteoclasts by targeting the AKT pathway. *Exp Cell Res*. 2020;389(2):111930.

77. Chidambaran V, Duan Q, Pilipenko V, Glynn SM, Sproles A, Martin LJ, et al. The Role of Cytokines in Acute and Chronic Postsurgical Pain in Pediatric Patients after Major Musculoskeletal Surgeries. *medRxiv*. 2024.

78. Jones MA, Hanison J, Apreutesei R, Allarakia B, Namvar S, Ramaswamy DS, et al. Plasma interleukin responses as predictors of outcome stratification in patients after major trauma: a prospective observational two centre study. *Front Immunol*. 2023;14:1276171.

79. Hietbrink F, Koenderman L, Rijkers GT, Leenen LPH. Trauma: the role of the innate immune system. *World Journal of Emergency Surgery*. 2006;1(1):15.

80. Böhland W, Sauer D. [Effect of infection on the immune system in burns in animal experiments]. *Z Exp Chir.* 1978;11(1):32-6.
81. Harris BH, Gelfand JA. The immune response to trauma. *Semin Pediatr Surg.* 1995;4(2):77-82.
82. Palmer C. Major trauma and the injury severity score--where should we set the bar? *Annu Proc Assoc Adv Automot Med.* 2007;51:13-29.
83. Andruszkow H, Veh J, Mommsen P, Zeckey C, Hildebrand F, Frink M. Impact of the body mass on complications and outcome in multiple trauma patients: what does the weight weigh? *Mediators Inflamm.* 2013;2013:345702.
84. Ayalon I, Bodilly L, Kaplan J. The Impact of Obesity on Critical Illnesses. *Shock.* 2021;56(5):691-700.
85. Poelemeijer YQM, Lijftogt N, Detering R, Fiocco M, Tollenaar RAEM, Wouters MWJM. Obesity as a determinant of perioperative and postoperative outcome in patients following colorectal cancer surgery: A population-based study (2009–2016). *European Journal of Surgical Oncology.* 2018;44(12):1849-57.
86. Møller AM, Pedersen T, Villebro N, Schnaberich A, Haas M, Tønnesen R. A study of the impact of long-term tobacco smoking on postoperative intensive care admission. *Anaesthesia.* 2003;58(1):55-9.
87. Wicke C, Bachinger A, Coerper S, Beckert S, Witte MB, Königsrainer A. Aging influences wound healing in patients with chronic lower extremity wounds treated in a specialized Wound Care Center. *Wound Repair Regen.* 2009;17(1):25-33.
88. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2010;89(3):219-29.
89. Polsky S, Akturk HK. Alcohol Consumption, Diabetes Risk, and Cardiovascular Disease Within Diabetes. *Current Diabetes Reports.* 2017;17(12):136.
90. Musso G. The Finnish Diabetes Risk Score (FINDRISC) and other non-invasive scores for screening of hepatic steatosis and associated cardiometabolic risk. *Annals of Medicine.* 2011;43(6):413-7.
91. Kaufmann KB, Heinrich S, Staehle HF, Bogatyreva L, Buerkle H, Goebel U. Perioperative cytokine profile during lung surgery predicts patients at risk for postoperative complications—A prospective, clinical study. *PLOS ONE.* 2018;13(7):e0199807.
92. Procházka V, Lacina L, Smetana K, Svoboda M, Skřivanová K, Beňovská M, et al. Serum concentrations of proinflammatory biomarker interleukin-6 (IL-6) as a predictor of postoperative complications after elective colorectal surgery. *World Journal of Surgical Oncology.* 2023;21(1):384.
93. Moura HF HF, Galland F, Silvelo D, Rebelatto FP, Ornell F, et al. . Inflammatory cytokines and alcohol use disorder: systematic review and meta-analysis. *Epub June 21 2022;Vol.44 Issue 5/2022: 548-556.*
94. Allen JE. IL-4 and IL-13: Regulators and Effectors of Wound Repair. *Annu Rev Immunol.* 2023;41:229-54.
95. Breinbauer R, Mäling M, Ehnert S, Blumenstock G, Schwarz T, Jazewitsch J, et al. B7-1 and PIGF-1 are two possible new biomarkers to identify fracture-associated trauma patients at higher risk of developing complications: a cohort study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2024;25(1):677.

96. Roeb E. Interleukin-13 (IL-13)-A Pleiotropic Cytokine Involved in Wound Healing and Fibrosis. *Int J Mol Sci.* 2023;24(16).
97. Li J, Xi F, Yu W, Sun C, Wang X. Real-Time Prediction of Sepsis in Critical Trauma Patients: Machine Learning–Based Modeling Study. *JMIR Form Res.* 2023;7:e42452.
98. Zdanowicz K, Kowalczyk-Kryston M, Olanski W, Werpachowska I, Mielech W, Lebensztejn DM. Increase in Serum MMP-9 and TIMP-1 Concentrations during Alcohol Intoxication in Adolescents—A Preliminary Study. *Biomolecules.* 2022;12(5):710.
99. El Hajj EC, El Hajj MC, Voloshenyuk TG, Mouton AJ, Khoutorova E, Molina PE, et al. Alcohol modulation of cardiac matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs favors collagen accumulation. *Alcohol Clin Exp Res.* 2014;38(2):448-56.
100. Kurzepa J, Kapka-Skrzypczak L, Mądro A. The impact of alcohol abuse on selected biochemical parameters in patients with chronic pancreatitis. *Journal of Health Inequalities.* 2024;10(1):17-21.
101. Ries C. Cytokine functions of TIMP-1. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71(4):659-72.
102. Wu Y, Song P, Yuan X, Li D. [Retracted] Exploring the Effect of Dapagliflozin on Alcoholic Kidney Injury and Renal Interstitial Fibrosis in Rats Based on TIMP-1/MMP-24 Pathway. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2021;2021(1):6538189.
103. Lebedev D, Babenko A. Effects of dapagliflozin of the markers of fibrosis and inflammation in type 2 diabetes and very high cardiovascular risk. *Russian Medical Inquiry.* 2021;5:185-8.
104. Althubaiti A. Information bias in health research: definition, pitfalls, and adjustment methods. *J Multidiscip Healthc.* 2016;9:211-7.
105. Davis CG, Thake J, Vilhena N. Social desirability biases in self-reported alcohol consumption and harms. *Addict Behav.* 2010;35(4):302-11.
106. Zhang S-Y, Li X-X, Mao W-J, Wang Y-B, Wang W. Blood culture of patients with postoperative infection in department of gynecology and obstetrics. *Chinese Journal of Nosocomiology.* 2019;29(19):3017–21.
107. Lee CG, Homer RJ, Zhu Z, Lanone S, Wang X, Koteliansky V, et al. Interleukin-13 induces tissue fibrosis by selectively stimulating and activating transforming growth factor beta(1). *J Exp Med.* 2001;194(6):809-21.
108. Iwaszko M, Biały S, Bogunia-Kubik K. Significance of Interleukin (IL)-4 and IL-13 in Inflammatory Arthritis. *Cells.* 2021;10(11).
109. Bernstein ZJ, Shenoy A, Chen A, Heller NM, Spangler JB. Engineering the IL-4/IL-13 axis for targeted immune modulation. *Immunol Rev.* 2023;320(1):29-57.
110. Rael EL, Lockey RF. Interleukin-13 signaling and its role in asthma. *World Allergy Organ J.* 2011;4(3):54-64.
111. Mitchell PO, Jensen JS, Ritzenthaler JD, Roman J, Pelaez A, Guidot DM. Alcohol Primes the Airway for Increased Interleukin-13 Signaling. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 2009;33(3):505-13.
112. TIMP-1 [Access Date: 08.06.2025, 13:04. [Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000102265-TIMP>.

113. Meadows GG, Zhang H. Effects of Alcohol on Tumor Growth, Metastasis, Immune Response, and Host Survival. *Alcohol Res.* 2015;37(2):311-22.

11 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde am Siegfried-Weller-Institut für unfallmedizinische Forschung (SWI) der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen unter der Betreuung von Herrn Professor Dr. Andreas Nüssler durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte in enger Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Nüssler sowie dem betreuenden Projektteam.

Die Rekrutierung der Patientinnen und Patienten, einschließlich Befragung, Blutentnahme und Dokumentation klinischer Daten, wurde eigenständig durch mich durchgeführt - in enger Abstimmung mit dem Klinischen Studienzentrum der BGU Tübingen und weiteren Projektbeteiligten des Forschungsverbundes AIQNET/KIKS.

Nach schriftlicher Einwilligung der Teilnehmenden wurden alle Blutproben von mir entnommen, verarbeitet, dokumentiert und archiviert. Die notwendige Einarbeitung in die experimentellen Abläufe im Labor des SWI erfolgte durch Frau Regina Breinbauer sowie Herrn Mohammad Majd Hammour. Sämtliche Laborexperimente (einschließlich Zytokin-Arrays und ELISAs) wurden anschließend eigenständig unter deren fachlicher Begleitung von mir durchgeführt.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte in Eigenarbeit. Begleitend wurde ich vom Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen, insbesondere von Herrn Prof. Dr. Blumenstock, beratend unterstützt. Seine Hinweise wurden zur Weiterentwicklung und Validierung der Analyse berücksichtigt.

Darüber hinaus erhielt ich während der Durchführung dieser Arbeit wertvolle inhaltliche Unterstützung durch PD Dr. med. Stefan Döbele, dessen fundierte Rückmeldungen mir insbesondere bei der Interpretation klinischer Zusammenhänge und im wissenschaftlichen Diskurs sehr geholfen haben.

Ich erkläre hiermit, dass ich die Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt habe. Alle genutzten Quellen und Hilfsmittel sind

ordnungsgemäß angegeben, wörtlich oder sinngemäß übernommene Inhalte sind entsprechend gekennzeichnet, und die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis wurden durchgängig beachtet.

Diese Dissertation wurde ausschließlich im Rahmen meines aktuellen Promotionsverfahrens eingereicht. Es bestehen keine parallelen oder vorausgegangenen Promotionsverfahren, noch ist die Arbeit anderweitig zur Begutachtung vorgelegt worden. Gegen mich liegen keine strafrechtlichen Ermittlungen vor. Mir ist bewusst, dass unrichtige Angaben im Zusammenhang mit dieser Erklärung rechtliche Konsequenzen nach sich ziehen und zur Aberkennung eines verliehenen akademischen Grades führen können.

Tübingen, den 09.09.2025

Yeldâ Anuk

12 Veröffentlichungen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit entstand ein wissenschaftliches Manuskript, das unter dem Titel:

Impact of alcohol consumption on outcomes and potential of immune biomarkers for postoperative complications in trauma patients

veröffentlicht wurde.

Hammour Mohammad Majd, **Yelda Anuk**, Regina Breinbauer, Romina H. Aspera- Werz, Yuxuan Xin, Guanqiao Chen, Tina Histing, Sabrina Ehnert, Andreas K. Nüssler, Stefan Döbele

Journal Frontiers in Immunology– veröffentlicht am 14.04.2025 - Vol. 16- 2025 - <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1492288>

13 Danksagung

Zum Abschluss dieser Dissertation möchte ich meine tief empfundene Dankbarkeit gegenüber all jenen ausdrücken, die mich während dieser intensiven und prägenden Zeit begleitet, gefördert und unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. Andreas Nüssler, für die Möglichkeit, an diesem spannenden Forschungsvorhaben mitzuwirken. Seine fachliche Kompetenz, sein Vertrauen in meine Fähigkeiten sowie seine Offenheit für den gemeinsamen Austausch haben diese Arbeit maßgeblich geprägt. Auch in Phasen, die durch äußere Umstände herausfordernd waren, hat er stets Verständnis gezeigt und mir mit seiner ruhigen und zugewandten Art den Rücken gestärkt. Für diese kontinuierliche Unterstützung und seine motivierende Art bin ich sehr dankbar.

Ein großer Dank gebührt PD Dr. med. Stefan Döbele, der mich mit viel Expertise und Engagement insbesondere bei der inhaltlichen Ausarbeitung meiner Dissertation begleitet hat. Seine konstruktiven Rückmeldungen und sein klares wissenschaftliches Verständnis waren für die Weiterentwicklung meiner Arbeit von großer Bedeutung.

Für die praktische Umsetzung der Laborarbeit danke ich Regina Breinbauer und Mohammad Majd Hammour, die mir mit viel Geduld und wertvoller Anleitung den Einstieg in die experimentellen Methoden ermöglicht haben. Ihr fachliches Know-how und ihre Verlässlichkeit waren eine zentrale Stütze im Verlauf meiner Laborarbeit.

Ebenso danke ich Prof. Dr. Sabrina Ehnert, die stets mit offenem Ohr und hilfreicher Unterstützung präsent war und mir durch ihre zielgerichteten Anregungen Sicherheit im Forschungsprozess gab.

Das Team des klinischen Studienzentrums der BGU Tübingen, unter der Leitung von Dr. med. Marie Reumann, hat entscheidend zur erfolgreichen Rekrutierung der Patientinnen und Patienten beigetragen. Für die enge, menschlich sehr angenehme Zusammenarbeit danke ich insbesondere Isabell Grow und

Franziska Riedmann, die mit großem Engagement und offener Kommunikation maßgeblich zum Gelingen dieser Phase beigetragen haben.

Ein weiterer Dank gilt der IT-Abteilung der BGU Tübingen, insbesondere Johann Jazewitsch und Tobias Schwarz, für ihre zuverlässige Unterstützung bei der Datenbankerstellung und technischen Umsetzung.

Für die Beratung und Unterstützung bei der statistischen Auswertung danke ich herzlich Prof. Dr. Blumenstock vom Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen. Seine methodischen Hinweise waren für die Analyse der Ergebnisse von großem Wert.

Mein tiefster Dank gilt meiner Familie sowie meinen langjährigen Freunden, die mich mit viel Geduld, Verständnis und Ermutigung durch alle Höhen und Tiefen dieser Promotionszeit begleitet haben. Ohne euch wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Diese Dissertation ist nicht nur das Ergebnis wissenschaftlicher Arbeit, sondern auch Ausdruck der Wertschätzung all jener, die mich auf diesem Weg gestärkt haben.